

**Studien zur zellvermittelten Immunität
immunologisch defekter Hühner**

Birgitt Schäfer

1972

Aus dem Institut für Tierphysiologie der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Vorstand: Prof. DDr. DDr. h. c. Johannes Brüggemann

Studien zur zellvermittelten Immunität immunologisch defekter Hühner

Inaugural-Dissertation

**zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität, München**

von

Birgitt Regina Schäfer

aus Bad Wildungen

München 1972

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen
Fakultät der Universität München

Dekan : Professor Dr. J. Boesseneck

Referent : Professor DDr.DDr.h.c. J. Brüggemann

Korreferent : Priv.Dozent Dr.H. Mahnel



Tag der Promotion : 14. Juli 1972

Inhaltsverzeichnis

I. Einleitung	Seite
Veränderungen des Immunglobulinstatus	-1-
Begriffe: Immunität a.) humoral	
b.) zellvermittelt	-2-
Thymus und Bursa	-5-
Mechanismus der Transplantatabstoßung	-7-
Mechanismus der "Graft versus host-Reaktion"	-10-
II. Material	
Tiermaterial	-13-
III. Methoden	
Immunoelektrophorese	-18-
Transplantation	
Narkose	-19-
Technik der Transplantation	-21-
Verbandstechniken	-24-
Unterbringung nach der Operation	-26-
Definitionen: Transplantatsherkunft	-26-
Vorversuche	-28-
Beurteilung	-28-
"Graft versus host-Reaktion"	
Tiermaterial	-30-
Technik der Zellübertragung	-31-
Herstellung der homologen Milzzell-	
suspension	-32-
Beurteilung	-34-

IV. Ergebnisse	Seite
Transplantation	
Spender-Empfänger Charakterisierung	-35-
Ausführliche Beurteilung	-42-
"Graft versus host-Reaktion"	
1. Teil der Versuche	
Immunkompetenz von Milzzellen ver-	
schiedener Herkunft	-52-
2. Teil der Versuche	
Fähigkeit dysgammaglobulinämischer	
Nachkommen zur "Graft versus host-	
Reaktion"	-55-
V. Diskussion	-57-
VI. Zusammenfassung	-70-
VII. Anhang	-74-
VIII. Literaturverzeichnis	-75-
Lebenslauf	

1. Einleitung

=====

In mehreren Arbeiten beschrieben BRÜGGEMANN und Mitarbeiter die Auffindung und Charakterisierung einer Hühner - Zuchtlinie, deren Vertreter eine Immuninsuffizienz ("Dysgammaglobulinämie") aufweisen (1,2,3,4). Die hauptsächlichsten Merkmale dieser immundefekten Tiere bestehen in hochgradigen Quantitätsunterschieden der Serum-immunoglobulinkonzentrationen gegenüber der Norm, einer sowohl sedimentationsanalytisch (5) als auch mit Hilfe der Gelfiltration (Sephadex G 200 ;6) erfaßbaren Verschiebung der sedimentierenden bzw. säulenchromatographisch trennbaren Serumkomponenten und in einem mittel - bis hochgradigem Antikörpermangelsyndrom.

Nachdem durch die bisherigen Untersuchungen ein ausschließlicher Mangel der humoralen Immunantwort festgestellt wurde, soll in der vorliegenden Arbeit geprüft werden, ob auch die zellvermittelten Immunreaktionen (z.B. die Transplantatabstoßung und die "Graft versus host-Reaktion"^x) der erblich dysgammaglobulinämischen Versuchstiere beeinträchtigt oder unterbunden

x = siehe S. 10

sind. Da beim Vogel eine Dissoziation der zellvermittelten und humoralen Immunreaktionen vorliegen soll (7a) und die erstgenannten vom Thymus, die zweitgenannten von der Bursa Fabricii initiiert werden sollen (7a,8), lag es nahe, chirurgisch bursektomierte Hühner - die während des Untersuchungszeitraumes zur Verfügung standen - in die Versuche miteinzubeziehen.

Nach einer einleitenden Begriffsbestimmung der humoralen bzw. zellvermittelten Immunreaktionen soll der Mechanismus der untersuchten Reaktionen - der Transplantatabstoßung und der "Graft versus host-Reaktion" - beschrieben werden.

Unter Immunität versteht man nach STEFFEN (9) "den Zustand einer veränderten Reaktionsfähigkeit, dessen Entstehen durch Antigenezufuhr ausgelöst wurde und der durch die Entwicklung und Existenz von Immunglobulinen und/oder Zellsystemen charakterisiert ist, die entsprechend dem zugeführten Antigen spezifisch adaptiert sind und deren Reaktion mit dem Antigen zum phylakogenen Immunphänomen führt."

Einleitung

Die Immunität läßt sich durch vier Merkmale charakterisieren (HAMMER ,10):

- 1.) induzierbare Proteinsynthese
- 2.) biologische Spezifität
- 3.) Proliferation immunologisch kompetenter Zellen
- 4.) Erinnerungsvermögen.

Ad 1.) Immunogene (Antigene,die eine spezifische Immunantwort hervorrufen) induzieren die Bildung von Immunglobulinen und Antikörpern,die Spezifisch gegen die sie hervorrufenden Antigene gerichtet sind (siehe Punkt 2).

Ad 4.) Antigene sind auch für eine Proliferation immunologisch kompetenter Zellen (vor allem kleiner Lymphozyten) verantwortlich (3).Diese kleinen Lymphozyten spielen als sogenannte memory cells eine wichtige Rolle beim immunologischen Erinnerungsvermögen,das sich dadurch auszeichnet, daß die Immunreaktion bei einer zweiten Einwirkung des gleichen Antigens schneller als beim ersten Mal erfolgt.

Der Begriff Allergie oder Überempfindlichkeit soll auf die,im Rahmen von Immunvorgängen

erworbene gesteigerte Reaktionslage beschränkt werden. Man unterscheidet die Überempfindlichkeit vom Sofort-Typ (immediate type) und die vom verzögerten Typ (delayed type). Diesen beiden Formen liegen grundlegende Unterschiede im Auslösemechanismus zugrunde.

Die Reaktion vom Sofort-Typ entwickelt sich in wenigen Sekunden oder Minuten nach dem Kontakt des Antigens mit dem Antikörper. Für diese Reaktionen sind zirkulierende Serumantikörper verantwortlich. Es handelt sich um eine humorale Allergie.

Nach HUMPHREY und WHITE (11) zählen zur allergischen Sofortreaktion:

- 1.) Anaphylaxie
- 2.) Arthus-Reaktion
- 3.) Läsionen der Zielzellen durch Antikörper.

Die Allergie vom verzögerten Typ (Spättyp) ist eine spezifische zellvermittelte Überempfindlichkeit. Die Fähigkeit zur Auslösung solcher Reaktionen wird einer vom Thymus kontrollierten Population kleiner Lymphozyten zugeschrieben, die befähigt ist, mit einer relativ großen antigenen Determinanten des Immunogens zu reagieren.

Einleitung

Der Einfluß des Thymus auf die Spättyp-Allergie wurde von WARNER (12) und MARVANOVÁ (13) mit Hilfe der Hauttransplantation an chirurgisch thymektomierten Küken untersucht.

Unter die Allergie vom verzögerten Typ fallen (11):

- 1.) bakterielle Allergien
- 2.) Überempfindlichkeiten vom Tuberkulintyp
- 3.) Kontaktüberempfindlichkeit gegen einfache Chemikalien.

Der Mechanismus der Transplantatabstoßung gleicht dem der Immunreaktion vom verzögerten Typ. Beide sind Beispiele zellvermittelter spezifischer Immunität.

Hier muß eingefügt werden, daß der Vogel außer dem auch beim Säugetier vorhandenen Thymus noch ein zweites immunologisches Initialorgan besitzt : die Bursa Fabricii. Dieses eigenständige lymphoepitheliale Organ ist ein rundes oder birnenförmiges Divertikel am dorsalen Kloakendach. Die Schleimhaut trägt Längsfalten, in die zahlreiche Knötchen aus lymphatischem Gewebe eingelagert sind. Diese Knötchen treten zwischen dem 13. und 21. Tag der Embryonalentwicklung

auf (ACKERMANN u. KNOUFF; 14). Die Bursa ist ebenso wie der Thymus in ihrer Entwicklung unabhängig von antigenen Einflüssen der Umwelt (THORBECKE; 20). Die lymphatischen Follikel der Bursa zeigen schon in der ersten Woche nach dem Schlupf eine Einteilung in Rinde und Mark wie beim erwachsenen Tier, während die Keimzentren der peripheren Organe, wie z.B. Milz und Lymphknoten, erst nach antigener Stimulierung entstehen. Die Involution der Bursa beginnt - ähnlich wie beim Thymus - zwischen der 7. und 8. Woche. Die Bursa ist mit etwa sechs Monaten atrophiert.

Die thymusabhängigen kleinen Lymphozyten sind immunologisch kompetente Zellen, die vor allem für die zellvermittelten spezifischen Immunreaktionen verantwortlich sind.

Die Bursa dagegen nimmt Einfluß auf die Ausbildung der humoralen Immunität, also auf die Antikörper - und Immunglobulinbildung. (Nach einer Bursektomie vermindert sich die Anzahl der zur Plasmazellreihe gehörenden Zellen.)

Bei den Vögeln liegt also - wie auch einleitend schon erwähnt - eine offensichtliche Trennung zellvermittelter Immunität von spezi-

fischer Antikörperantwort vor, die mit der Funktion zweier verschiedener Organe verbunden ist (11).

Im folgenden sollen die grundsätzlichen Mechanismen 1.) der Transplantatabstoßung und 2.) der "Graft versus host-Reaktion" beschrieben werden.

Mechanismus der Transplantatabstoßung (11)

Mit dem Allotransplantat⁺ werden Transplantatsantigene übertragen. Diese bewirken eine initiale Stimulierung des zentralen immunologischen Apparates des Wirtes. Der Hauptreaktionsort der frühen Antwort auf ein solides Transplantat ist der regionäre oder "dränierende" Lymphknoten. Solange bis die Anpassungsreaktion des Wirtes voll eintritt, bleibt das Allotransplantat vital.

Der Lymphknoten schwillt durch Einlagerung von pyroninophilen Blastzellen und kleinen Lymphozyten in die thymusabhängigen Regionen an. Über die afferenten Lymphgefäße gelangen die Transplantatsantigene in den regionären Lymphknoten und reagieren hier mit den kleinen Lymphozyten. Aber die in den Gewebespalten vorhandenen Lymphozyten können auch direkt mit den Transplantatzellen in Verbindung treten.

+ = siehe S.27

Einleitung

Die sensibilisierten lymphatischen Zellen treten in engen - durch zellgebundenen Antikörper wahrscheinlich bleibenden - Kontakt mit den allogenen Transplantatzellen, Dieser enge Kontakt mit den Zielzellen, die unterschiedliche Oberflächenantigene besitzen, ist Voraussetzung für die Zytotoxizität.

Wenige kleine Lymphozyten können, wenn sie in Interaktion mit den Antigenen treten, eine große Anzahl bereitstehender Makrophagen aktivieren. Diese haften aneinander und immobilisieren die Gesamtpopulation der in diesem Gebiet vorhandenen Zellen. Außerdem phagozytieren Makrophagen mit Isoantikörpern opsonisierte Transplantatzellen. Die Lymphozyten werden also bei der Zerstörung des Hauttransplantates durch sekundär aktivierte Makrophagen unterstützt.

Die Stärke der Immunantwort auf ein Gewebetransplantat ist davon abhängig, wie ausgeprägt die genetischen und antigenen Differenzen zwischen Spender und Empfänger sind. Das Antigensystem besteht aus starken Antigenen, die eine energiegeliche Immunantwort auslösen und schwachen Antigenen, die nur eine schleichende Transplantatabstoßung induzieren. Allerdings können die Wirkungen schwacher Antigene kumulieren und

diejenigen einiger starker Antigene intensivieren.

Bei einigen Tieren sind schon genetische Histokompatibilitätsorte bekannt, so daß hier durch Gewebetestung und Auswahl eines geeigneten Spender - Empfänger - Paares eine besonders günstige Transplantatreaktion erreicht werden kann. (Der Haupt-Histokompatibilitätslocus des Huhnes ist der B-Locus; 23.)

Die zirkulierenden humoralen Antikörper haben keinen primären Einfluß auf die Transplantatabstoßung, sie beschleunigen aber die Reaktion.

Bei der primären Transplantatabstoßung (first set reaction) tritt wie bei dem einheilenden Autotransplantat eine vorübergehende Infiltration des Transplantatbettes mit polymorphkernigen Leukozyten ein, die etwa 48 Stunden anhält. Zwischen dem dritten und dem neunten Tag kommt es zu einer zunehmenden Infiltration von Monozyten und Lymphozyten, die um die kutanen Gefäße am Transplantatgrund beginnt und sich durch die Kutis bis in die Epidermis ausdehnt. Die Anzeichen einer Gewebnekrose treten histologisch sichtbar am siebenten oder achten Tag

auf, ungefähr 48 Stunden bevor die Nekrose makroskopisch erkennbar ist.

Mechanismus der "Graft versus host-Reaktion"

Das Phänomen der Milzvergrößerung eines Empfängers, dem Milzgewebe oder Blut eines Spenders injiziert wurde, ist zwar schon seit 1916 (MURPHY;15) bekannt. Aber erst 1957 gelang es SIMONSEN (16) die immunologische Natur dieses Vorganges zu klären. Er prägte den Begriff "Graft versus host-Reaktion" und stellte heraus, daß es sich um eine gegen den Wirt gerichtete Reaktion der immunkompetenten, inkompatiblen Spenderzellen (lymphatische Zellen, Lymphknoten-, Milzzellen) handelt.

Diese Zellen erkennen die Nicht-selbst-Qualität des Empfängerorgans, proliferieren dagegen und reagieren gegen die Antigene des Empfängers selbst immunologisch = "Graft versus host-Reaktion".

Eine ausgeprägte "Graft versus host-Reaktion" erhält man bei Empfängern, die keinen intakten Immunapparat mehr (oder noch nicht) besitzen.

Diese Reaktion der immunkompetenten injizierten Zellen kann zu einem Krankheitsbild führen, das als "Runt disease" bekannt ist. Die Symp-

tome sind: Kümern ,Zwergwuchs ,Diarrhoe ,Haar-
ausfall ,Splen- und Hapatomegalie; häufig - aber
nicht bei allen Tierarten - tritt eine hämoly-
tische Anämie auf (16).

Handelt es sich allerdings um Tiere, deren zell-
vermittelte Immunität intakt ist, so können die
Empfängerantikörper gegen die injizierten Zellen
reagieren und diese zerstören, so daß die "Graft
versus host-Reaktion" gemildert wird. In diesen
Fällen tritt von den Symptomen der "Runt disease"
meist nur noch eine mehr oder weniger ausgepräg-
te Splenomegalie auf (17).

Das Ausmaß der Splenomegalie ist aber auch
noch von anderen Faktoren abhängig, so z.B. von
der Anzahl der injizierten Spenderzellen - und
damit von der Anzahl der injizierten Antigene,
von dem Alter des Empfängers - unterschiedliche
Reife des Immunsystems - und von der Stärke der
antigenen Stimulation, bedingt durch genetische
Faktoren.

Eine weitere Anwendung findet die "Graft ver-
sus host-Reaktion" bei der Feststellung der Immun-
kompetenz verschiedener Zellen.

Die "Graft versus host-Reaktion" tritt auch
bei den F_1 -Hybriden reiner Elternstämme auf,

wenn die Hybriden mit immunkompetenten Zellen eines Elternteiles behandelt werden. Da es sich dabei um Antigene handelt, die der Empfänger selbst besitzt, kann die Nicht-selbst-Qualität der injizierten Zellen von den Empfänger-Antikörpern nicht erkannt werden. Die übertragenen immunkompetenten Zellen reagieren aber gegen die Antigene, die vom anderen Elternteil stammen und rufen Symptome der "Runt disease" hervor. Auf diese Art läßt sich bei reingezüchteten Linien der Inzuchtgrad bestimmen.

Diese beiden Reaktionen - die Transplantatabstoßung und die "graft versus host-Reaktion" - wurden zur Überprüfung einer vorhandenen zellvermittelten Immunreaktion bei den erblich dysgammaglobulinämischen Hühnern herangezogen.

II. Tiermaterial

- 1.) Die dysgammaglobulinämischen Versuchshühner stammen von einem HNL (Heisdorf-Nelson-Lohmann)-Leghorn Hahn ab, der eine permanente Dysgammaglobulinämie aufwies. Durch Einkreuzung von Tieren, die diese Form der Dysproteïnämie ebenfalls zeigten, gelang es, Merkmalsträger herauszuzüchten. Die Zucht dieser erblich dysgammaglobulinämischen Tiere erwies sich als schwierig, da schon der Stammhahn begattungsunfähig und nach einem Jahr steril war. Auch die Befruchtungsfähigkeit seiner Nachkommen war schlecht. Hinzu kam eine hohe embryonale und frühe postnatale Absterberate.

Von den Nachkommen dysgammaglobulinämischer Elterntiere zeigen etwa 40% ein normales und 60% ein gestörtes Immunglobulinbild. Dabei treten verschiedene Veränderungen im Immunglobulinserumbild auf. Die beiden beim Huhn bekannten Immunglobuline sind: das Immunglobulin G (IgG) und das Immunglobulin M (IgM). Man fand folgende Formen:

- 1.) Hypogammaglobulinämie
sowohl IgG als auch IgM fehlen
oder sind stark vermindert.

2.) Dysgammaglobulinämie

Im Serum dieser Tiere fehlt das IgG entweder ganz oder ist zumindest stark vermindert. IgM tritt dagegen in normaler bis stark vermehrter Konzentration auf. Abhängig von den Konzentrationsverschiebungen kann man zwei Typen unterscheiden:

Typ A:

hier liegt keine oder eine kaum meßbare IgG-Konzentration vor, während der IgM-Gehalt normal oder vermehrt ist.

Typ B:

bei subnormalem IgG-Spiegel tritt eine deutlich bis hochgradige IgM-Vermehrung auf.

Mit Hilfe der einfachen radialen Immundiffusion nach Mancini bestimmten LÖSCH u. Mitarbeiter (4) die Höhe der Immunglobulinspiegel bei normalen Kontrolltieren und bei dysgammaglobulinämischen Hühnern vom Typ A und B.

In Tabelle 1 sind Grenzwerte der zwei dysgammaglobulinämischen Typen aufgeführt.

Tabelle 1

<u>Tier</u>	<u>mg IgG/100 ml</u>	<u>gM %</u>
Kontrolle	~ 1100	150
Typ A	< 150	> 200
Typ B	200- 800	> 300

Tabelle 1: Immunglobulinstatus normaler
und dysgammaglobulinämischer
Hühner

Interessant ist, daß auch bei der experimentellen Bursektomie von Eintagsküken, über die WARNER u. SZENBERG (18), ORTEGA u. DER (19) und COOPER et al. (8) berichteten, eine permanente Dysgammaglobulinämie auftritt. Die gleichen Ergebnisse erzielte MERKENSCHLAGER et al. (21) bei hormonell bursektomierten Tieren.

- 2.) Die bursektomierten Hühner waren von KOBOSIL (28) im Rahmen anderer Versuche kurz nach dem Schlupf chirurgisch bursektomiert worden. Es handelte sich um HNL-Tiere, die als Bruteier von der Fa. Lohmann, Gut Heinrichsruh geliefert wurden und in einem Kleinbrüter der Fa. Ehret bei einer Temperatur von 37°C - ebenso wie die Eier der dysgammaglobulinämischen Hühner - bebrütet wurden. Für die vorgelegten Versuche wurden

nur solche Tiere verwandt, die eine Dysgammaglobulinämie vom Typ A aufwiesen.

Die dysgammaglobulinämischen und die chirurgisch bursektomierten Tiere wurden in halbisolierten Stallungen gehalten. Sie waren in kleinen Gruppen in Drahtkäfigen untergebracht. Gefüttert wurde handelsübliches Kükenalleinfutter, Junghehnenaufzuchtfutter und Legehennenalleinfutter (Zusammensetzung der Fertigfutter im Anhang). Dem Wasser der dysgammaglobulinämischen Küken wurde zu bestimmten Zeitpunkten Tylosin⁺ zugesetzt, um vor allem eine Mykoplas-mose zu verhindern. Die Tiere erhielten Futter und Wasser ad libitum.

3.) Bei den Transplantationsversuchen dienten als Kontrolltiere:

a.) Broiler, die als Bruteier von der Fa. Lohmann, Regenstauff geliefert wurden und von anderen Versuchen als unbehandelte Kontrolltiere zur Verfügung standen.

+ = Elanco-T (Tylosintartrat ad us. vet.) für Hühner und Truthühner der ELY LILLY GmbH, Gießen. Zur Prophylaxe werden 0,5g Elanco-T solubile pro Liter Trinkwasser während der ersten fünf Lebensstage gegeben, die gleiche Menge 48 Stunden lang im Alter von vier Wochen. Wiederholte Gaben über zwei Tage in gleicher Dosierung sind in der 9., 16., 20. und 24. Lebenswoche der Tiere angebracht.

- b.) Nachkommen dysgammaglobulinämischer Tiere, deren Immunglobulinspiegel normale Werte aufwiesen. Sie waren zum Zeitpunkt der Transplantation vier Monate bzw. zwei Jahre alt und gehörten dem Typ nach zu Leghorn-Broiler-Hybriden.
- c.) Leghorn-Hähne, die als Eintagsküken von der Fa. Lohmann, Gut Heinrichsruh geliefert wurden.

Ebenfalls als Eintagsküken wurden aus Heinrichsruh männliche Leghornküken besorgt, die für die Versuche zur 'Graft versus host-Reaktion' verwandt wurden.

Diese Tiere wurden in normalen Stallungen in kleinen Gruppen in Drahtkäfigen bzw. Kükenbatterien gehalten. Sie erhielten handelsübliches Kükenaufzuchtsfutter bzw. Junghennenalleinfutter (Zusammensetzung im Anhang) und Wasser ad libitum.

III. Methoden

Immunelektrophorese

Die Immunelektrophorese (GRABAR u. WILLIAMS; 22) wurde nach der Modifikation von SCHEIDEGGER (23) durchgeführt. Es wurde Agarose und Natrium-Vergonell-Puffer (Ionenstärke⁺ $\mu = 0,15$; pH = 8,2) verwendet. Der gleiche Puffer ($\mu = 0,1$) diente als Elektrolyt. Die Laufzeit betrug 60-90 Minuten bei einer Spannung von ca. 7 Volt/cm. Verwendet wurde das L K B - Gerät⁺⁺.

Die spezifischen Antiseren (Anti-IgG und Anti-IgM) wurden hergestellt durch Absättigung polyvalenter Antiseren mit Seren burspektomierter, dysgammaglobulinämischer, neugeborener und keimfreier Küken, d.h. mit Seren, denen IgG, IgM oder beides hochgradig oder ganz fehlte. (MERKENSCHLAGER et al.; 45)

$$+ = .1/2 \sum_i x c_i \times z_i^2$$

c_i = Konzentration in Mol/l

z_i = Ladung

i = Anzahl der Ionen

++ = LKB-Produkte ab, Stockholm

Narkose

Die Tiere wurden in Vollnarkose operiert. Als Injektionsnarkotikum wurde N e m b u t a l (Pentobarbital Natrium, Abbott, ad us. vet. 60mg/ml) intraperitoneal ca. 2 cm cranial der Kloake streng medial (nach WESTHUES u. FRITSCH, 24) appliziert.

Nembutal wurde mit 5%iger Glucoselösung im Verhältnis 1:4 verdünnt.

Die Dosierung wurde in einer Versuchsreihe ermittelt: Es wurden 2,0-2,8 ml Nembutal-verdünnung pro kg Körpergewicht verabfolgt, was 20-40 mg/kg entspricht.

Das Toleranzstadium trat nach 10-15 Minuten ein, bei einer Narkosedauer von 30-40 Minuten - in einigen Fällen von 90 Minuten. Exzitationsstadien traten nur selten auf. Die Muskelrelaxation war gut. Es wurde ein Nachschlaf von 1/2 - 4 Stunden beobachtet.

Es stellte sich heraus, daß weibliche Tiere höhere Dosen benötigten als männliche. Besonders hohe Dosen mußten bei Tieren gegeben werden, die die letzten in der Hackordnung waren. Auch traten hier die meisten Exzitationen auf. Die dysgammaglobulinämischen Hühner benötigten im Schnitt weniger Narkoselösung als gleichalte Kontrolltiere.

TransplantationsmethodenVorbereitung

Nach Eintritt der Narkose wurde das Huhn auf die Seite gelegt, eine handtellergroße Stelle gerupft und sorgfältig gesäubert. Desinfiziert wurde mit 60%igem Alkohol.

Lokalisation

Die Hauttransplantate wurden am Oberschenkel verpflanzt, weil sich hier ein sicherer Schutzverband anlegen ließ. Außerdem war die Blutversorgung sehr gut, obwohl sich andererseits Blutungen leicht beherrschen ließen; auch war das Unterhautgewebe locker genug, um eine Hautfalte bilden zu können.

Bei Versuchen an anderen Körperstellen traten Schwierigkeiten auf. Die dorsale Fläche des Halses empfahl sich durch die anatomisch günstige Lage, die ein Selbstbepicken unmöglich machte, so daß kein Verband nötig war. Jedoch war aber die Empfindlichkeit so stark, daß die Tiere aus tiefer Narkose erwachten. Außerdem traten starke, schlecht zu beherrschende Blutungen auf. Am Rücken war die Haut zu straff, so daß hier keine Hautfalte gebildet

werden konnte. Zu fettreich war das Unterhautgewebe an der Brustseite, auch ließ sich hier kein sicherer Verband anlegen.

Technik der Transplantation

Aus der gebildeten Hautfalte wurden mit einer Hautstanze der Fa. Stöckert, München zwei kreisrunde Vollhautstücke herausgestanzt, die einen Durchmesser von 15 mm hatten.

Diese Technik wurde im Institut für experimentelle Chirurgie der Universität München bei Ratten angewandt. Dank der freundlichen Unterstützung von Herrn Dr. C. Hammer konnte ich mir dort die Methoden aneignen.

Anfangs wurden die Transplantate vom Unterhautgewebe befreit, genauso wie es bei den Rattenversuchen durchgeführt wurde. Zu diesem Zweck wurden die Transplantate auf einen Objektträger gelegt und das Unterhautgewebe, das sich durch eine gelbliche Farbe und fettige Konsistenz auszeichnet, mit Hilfe einer gebogenen stumpfen Präparierschere in kurzen Schnitten abgetragen, bis nur noch die sehr dünne pergamentartige Cutis übrig blieb.

Abbildung Nr.1

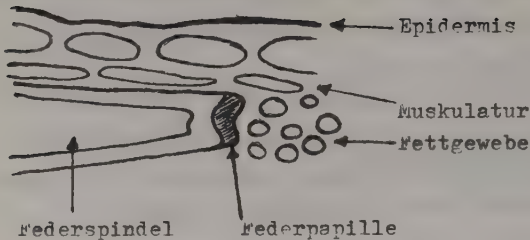


Abbildung Nr.1 : Histologie der Hühnerhaut
(n. TRAUTMANN u. FIEBLIGER: Lehrbuch der
Histologie und vergleichenden histologischen
Anatomie der Haustiere; 1949)

Die Epidermis der Hühnerhaut ist sehr dünn,
die Subcutis dagegen ist stark ausgebildet
und reich an lockerem Bindegewebe und Fett.

Im Gegensatz zu den Transplantationsversuchen
an der Ratte wurde durch die Entfernung der
Subcutis beim Huhn keine verbesserte Einheil-
lungstendenz festgestellt. Die Erfolge waren
teilweise durch die mechanische Irritierung
schlechter als bei "unbehandelten" Voll-
hauttransplantaten. Daher wurden nur noch
Vollhauttransplantate übertragen.

Die Gewebestücke wurden bis zur Transplantation
auf Verbandmull aufbewahrt, der mit physiolo-
gischer NaCl-Lösung getränkt war.

Methoden

Blutende Gefäße wurden mit Arterienklemmen abgeklemmt und die Ränder von Blutkoagula gesäubert. Bis zur Einpassung der Transplantate wurden die kreisrunden Wunden mit Verbandmull abgedeckt.

Erst wenn die Blutung stand und die Wunde gesäubert war, wurde das Transplantat eingepaßt. Es wurden je ein Transplantat als Autotransplantat beim Spendertier und ein zweites Transplantat als Allotransplantat beim Empfänger orthotrop verpflanzt. Das Autotransplantat diente als Kontrolle. Es wurden nur solche Ergebnisse gewertet, bei denen das Autotransplantat eingeheilt war. Zeigten sich beim Autotransplantat Zeichen einer Infektion, wurde dieser Versuch nicht berücksichtigt.

Die Transplantate wurden um 180° gedreht, um ein späteres Auffinden der eingeheilten Transplantate zu ermöglichen. Befestigt wurden die Transplantate mit H i s t o a c r y l, einem Gewebekleber der Fa. Braun, Melsungen. Es handelt sich um den blaufärbten n-Butyl-ester aus der Reihe der alpha -Cyano-acrylsäure, der in Gegenwart von Flüssigkeit in 10 Sekunden zu einem festen Stoff polymerisiert. Dieser Kleber wurde in möglichst dünner Schicht in den Spalt zwischen Transplantat und Wundrand eingespritzt. Mit einer Pinzette wurden die

Gewebeteile kurze Zeit aneinander gedrückt. Heilungsschwierigkeiten gab es nur, wenn zuviel Kleber den Wundrand vom Transplantat abdrängte. Sonst wurde der Klebstoff ebenso wie der Farbstoff vollständig resorbiert. Gewebekleber, der versehentlich auf das Gewebe tropfte, blieb dort reaktionslos liegen und konnte später abgezogen werden. Der blaue Farbstoff ermöglichte eine gute Markierung der Grenzschichten.

Verbandstechniken

Es wurden verschiedene Verbände angewandt:

- a.) verbandslos wurden nur die Transplantate am Hals behandelt.
- b.) Fliegendrahtverbände bestanden aus 3x5 cm großen feinmaschigen Fliegendraht-Rechtecken, deren Ränder mit Leukoplast umklebt waren. Sie wurden über den Transplantaten angebracht und am Rand mit Leukoplast festgeklebt. Ihr Vorteil bestand darin, daß die Transplantate nicht von der Luft abgeschlossen waren und jederzeit, ohne daß der Verband entfernt werden mußte, beurteilt werden konnten. Nachteilig war, daß der biege-

same Draht vom Hühnerschnabel auf das Gewebe gedrückt werden konnte, dort festklebte und die Wunde irritierte oder das Transplantat sogar abriß.

c.) Mullverband Es wurden zwei Lagen Mull auf die Transplantate gelegt und mit Leukoplast (5 cm breit) festgeklebt.

d.) Der Flügelverband wurde zusätzlich zum sicheren Schutz des eigentlichen Verbandes angebracht. Hierzu wurde der entsprechende Flügel mit Leukoplast über dem Schenkel festgeklebt. Der Pflasterstreifen wurde unter der Brust, unter dem Flügel der anderen Seite, über den Rücken und nochmals über den schützenden Flügel zur Brust geführt. Als primärer Verband eignete er sich nicht, da erstens die scheuernden Federn das Gewebe irritieren, und es zweitens den Vögeln möglich war, durch die Federn hindurch-zupicken und die Transplantate abzureißen. Am häufigsten wurde der Mullverband zusammen mit dem Flügelverband angewandt.

Unterbringung nach der Operation

Die frisch operierten Tiere wurden wenigstens 24 Stunden lang in Einzelkäfigen untergebracht. Danach mußten sie allerdings aus Platzmangel zu ihren Gruppen in die Gemeinschaftskäfige zurückgesetzt werden. Es wurden aber nur gleichalte Tiere zusammengehalten, die außerdem ebenfalls alle operiert wurden. Der Flügelverband erwies sich auch gegen gegenseitiges Hacken als guter Schutz. Kanibalismus kam nur ein einziges Mal vor, als sich eine Henne in dem Verband verfangen. Das Tier wurde in den Einzelkäfig zurückgesetzt und konnte gerettet werden. Die Transplantate waren noch durch den Mullverband geschützt und wurden nicht beschädigt.

Definitionen (9)

Transplantationsimmunität:

Die Transplantation umfaßt den Vorgang der parenteralen Übertragung von Zellmaterial in lebendem und vermehrungsfähigem Zustand, wobei das auf den Empfänger übertragene Material Transplantat genannt wird.

Es wird je nach seiner Herkunft verschiedenartig bezeichnet:

- a.) Autotransplantat, ein Transplantat, das von einer Körperregion eines Individuums auf eine andere Körperregion des gleichen Individuums übertragen wird.
- b.) Isotransplantat (isogenes Transplantat), ein Transplantat, das zwischen zwei Individuen ausgetauscht wird, die von einer genetisch rein gezüchteten Linie einer Spezies stammen.
Die beiden Individuen verhalten sich zueinander wie eineiige Zwillinge.
- c.) Allotransplantat (Homotransplantat), ein Transplantat, das zwischen zwei Individuen der gleichen Spezies ausgetauscht wird, ohne daß diese beiden Individuen genetisch gleiche Merkmale - wie z.B. Abkömmlinge reiner Linien - aufweisen.
(Allogenes Transplantat).
- d.) Xenotransplantat (Heterotransplantat), ein Transplantat, das zwischen zwei Individuen verschiedenartiger Spezies ausgetauscht wird.

Vorversuche

Zur Einübung der Transplantationstechnik, der Narkosedosierung und der verschiedenen Verbände wurden- vor Beginn der eigentlichen Versuche - 21 Autotransplantationen vorgenommen und 39 Tiere in Narkose gelegt. Auch wurden die Transplantationen an verschiedenen Körperstellen (Hals, Brust, Rücken, Oberschenkel) vorgenommen und die Vor- und Nachteile der einzelnen Verbandsarten ausprobiert. Bei der Narkose zeigten die verschiedenen Tiere eine unterschiedliche Reaktionslage - abhängig von Geschlecht, Alter, Typ (Legetyp, Masttyp) und der Stellung der Tiere in der Hackordnung.

Beurteilung

Die Kontrolle der Transplantate wurde am Anfang täglich vorgenommen. Dabei stellte sich heraus, daß sich Auto- und Allotransplantat bis zum 7.-8. Tag nicht unterscheiden. Daher wurde später - bei der Mullverbandtechnik - erst vom sechsten Tag an kontrolliert.

Am 8.-9. Tag veränderte das Allotransplantat seine Konsistenz. Das Gewebe wurde nekrotisch, hart und trocken. Die Farbe des eingetrockneten nekrotischen Gewebes war braun-schwarz bis

schwarz. Zu diesem Zeitpunkt wurde das Transplantat als abgestoßen beurteilt.

Das Autotransplantat wies zur gleichen Zeit eine gelbliche Farbe auf und unterschied sich auch in seiner Konsistenz nicht von dem umgebenden Gewebe. Lediglich ein sehr feiner Ring deutete noch die alte Begrenzung zwischen Transplantat und ursprünglichem Gewebe an.

Narbengewebe unterschied sich in Farbe, Form und Konsistenz deutlich von den Transplantaten. Es wies eine rote oder rötliche Farbe auf, zeigte radiäre Falten und war von derber Konsistenz.

"Graft versus host-Reaktion"

Material

In den vorliegenden Versuchen wurden erstens die Immunkompetenz der Milzzellen verschiedener Spender und zweitens die Fähigkeit zur zellvermittelten Immunität der dysgammaglobulinämischen Küken untersucht.

Für den ersten Teil des Versuches wurden als Empfänger Leghorn-Küken der Fa. Lohmann, Gut Heinrichsruh (HNL-Tiere), die als Eintagsküken geliefert wurden, benutzt.

Als Milzspender wurden folgende erwachsene Tiere verwandt:

- 1.) normale Kontrolltiere
- 2.) chirurgisch bursektomierte Tiere
- 3.) dysgammaglobulinämische Tiere

Die Herkunft dieser Hühner wurde oben beschrieben.

Im zweiten Teil des Versuches waren die Empfänger Nachkommen des oben erwähnten dysgammaglobulinämischen Stammes, die Milzspender normale Kontrolltiere.

Alle Versuche wurden an Eintagsküken und an 12 Tage alten Küken vorgenommen. Die Tiere wurden in Kükenbatterien gehalten. Die dysgammaglobulinämischen Küken waren in halbisolierten Stallungen untergebracht. Alle Gruppen wurden

mit handelsüblichem Kükenalleinfutter (Zusammensetzung siehe Anhang) gefüttert. Wasser wurde ad libitum angeboten. Dem Trinkwasser der dysgamma-globulinämischen Küken wurde am ersten Tag Tylosintartrat (siehe S.16) zugesetzt.

Zu den als "dysgamma-globulinämische Küken" bezeichneten Tieren muß angemerkt werden, daß es sich bei ihnen zwar um Nachkommen dysgamma-globulinämischer Elterntiere handelt, daß aber die bleibenden Immunglobulinspiegel der einzelnen Küken in diesem Alter nicht feststellbar sind. Erfahrungsgemäß zeigen aber mindestens 60% der Nachkommen dysgamma-globulinämischer Hühner eine hochgradige Proportionsverschiebung der Immunglobulinkonzentrationen.

Methoden

Als immunkompetente, inkompatible Zellen wurden suspendierte Milzzellen übertragen.

Die Tiere bekamen - abhängig vom Alter - eine bestimmte Anzahl lebender Milzzellen intraperitoneal injiziert.

Die Zellzahl betrug bei Eintagsküken 1×10^8 Zellen; bei 12 Tage alten Tieren 7×10^8 Zellen (nach MARVAROVA ;13).

In der Literatur schwanken die Angaben der Zellzahlen für 12 Tage alte Küken von

4×10^8 Zellen bei WARNER u. SZENBERG (25) über 7×10^8 Zellen bei MARVANOVÁ (13), bis 2×10^9 Zellen bei PAPERMASTER et al. (26). Den Eintagsküken wurden in allen Fällen 1×10^8 Zellen injiziert.

Die Injektion erfolgte streng medial zwischen Nabel und Kloake.

Danach wurden die Tiere in Kükenbatterien gesetzt und wie normale Küken behandelt.

Herstellung der homologen Milzzellsuspension ⁺

Die Milzen erwachsener Spender wurden sofort nach der Entnahme verarbeitet.

Die Milzkapsel wurde entfernt und die ganze Milz mit einer Schere fein zerkleinert. Anschließend wurde die Masse durch ein Sieb (0,5 mm Maschenweite) gedrückt, in EARLE-Medium gewaschen und durch ein Gazefilter passiert. Dann wurde die Suspension 10 Minuten lang mit 2000 Umdrehungen zentrifugiert und das Sediment in 2-10 ml EARLE-Medium aufgenommen.

Zur Auszählung der Zellen wurden 0,5 ml der Suspension mit Kristallviolett im Verhältnis 1:5 versetzt. Die gefärbten Zellen wurden unter

+ = Für die Angaben zur Herstellung einer Zellsuspension sei Herrn PD. Dr. H. Mahnel herzlich gedankt.

dem Mikroskop (Vergrößerung: 12,5 x 40) in der Thoma-Kammer ausgezählt. Es wurden 5 x 16 Felder beurteilt.

Die Berechnung erfolgte folgendermaßen:

$$\text{Inhalt der Felder} = \frac{1}{4000} \text{ mm}^3$$

Anzahl der Zellen pro Feld: (z.B. 15)

Verdünnung (Kristallviolett) = 5

also Zellen: 15 x 5 = 75

$$75 \text{ Zellen in } \frac{1}{4000} \text{ mm}^3$$

$$X \text{ Zellen in } 1 \text{ cm}^3$$

$$\frac{75 \times 1000}{0,00025} = X$$

$$3 \times 10^8 = X$$

=====

Die Zellzahl wurde so eingestellt, daß sich je nach Alter der Küken 1×10^8 Zellen bzw. 7×10^8 Zellen in 1/2 ml Suspension befanden.

Die Milzzellsuspension enthält die Lymphozyten, die als immunkompetente Zellen für die "Graft versus host-Reaktion" verantwortlich sind.

Es könnten entsprechend auch Blut-Lymphozyten übertragen werden.

Die Kontrolltiere erhielten die gleichen Mengen EARLE-Medium ohne Zellen intraperitoneal injiziert und wurden mit den Test-Tieren zusammengehalten.

Beurteilung

Die Tiere wurden sieben Tage nach der Injektion gewogen und getötet. Dann wurde die Milz entfernt und ihr Gewicht festgestellt. Aus der Relation Milzgewicht in mg zu Körpergewicht in g ergab sich der "Graft versus host-index", der die relative Milzvergrößerung ausdrückt.

$$\text{"Graft versus host-index"} = \frac{\text{Milzgewicht in mg}}{\text{Körpergewicht in g}}$$

Dann wurde der "Chimeric-Index" (25) festgestellt, der das Verhältnis der Indices zwischen Test- und Kontrollgruppe darstellt.

$$\text{"Chimeric-Index"} = \frac{\text{GVH-Index}^+ \text{ der Testgruppe}}{\text{GVH-Index} \text{ der Kontrollgruppe}} .$$

+ = "Graft versus host-index"

VI. Transplantationsergebnisse =====

Tierzahl

Die Hauttransplantationen erfolgten an 64 Tieren. Davon entfielen 21 auf die Vorversuche, die der Einübung der Techniken dienten. Hierbei wurden nur Autotransplantationen vorgenommen. Bei 18 Kontrolltieren wurden Allotransplantate - und zusätzlich Kontroll-Autotransplantate - verpflanzt. Die gleiche Methode wurde bei sechs verfügbaren chirurgisch bursektomierten Hühnern und bei 19 dysgammaglobulinämischen Tieren angewandt.

Spender-Empfänger Charakterisierung

Bei den Vorversuchen handelte es sich um Tiere aller Altersstufen zwischen acht Wochen und zwei Jahren. Die Transplantationen wurden bei Hähnen und Hennen vorgenommen. Die Tiere gehörten sowohl zum Lege - als auch zum Masttyp.

Es handelte sich um:

- 1.) unterschiedliche Tiere aus der Nachzucht der dysgammaglobulinämischen Hühner, deren Immunglobulinspiegel normale Werte aufwiesen. Sie gehörten hauptsächlich zum Typ der Leghorn-Broiler-Hybrid.
- 2.) Leghorn
- 3.) Broiler.

Kontrolltiere

Die meisten Hühner stammten aus der oben erwähnten Nachzucht. Vier dieser Tiere waren zum Zeitpunkt der Transplantation etwa zwei Jahre alt. Die restlichen Tiere wurden mit ca. drei Monaten operiert. Die sechs Broiler waren ungefähr vier Monate alt. Der Leghornhahn (Nr. 600) wurde mit ca. drei Monaten getestet. Die Daten der Kontrolltiere sind aus Tabelle 2 zu sehen.

Bursektomierte Hühner

Die sechs chirurgisch bursektomierten Tiere waren Leghorn Hühner, bei denen die Transplantation im Alter von ca. vier Monaten vorgenommen wurde. Das Serum - Immunglobulinmuster entsprach der Dysgammaglobulinämie vom Typ A. Weitere Daten siehe Tabelle 3.

Dysgammaglobulinämische Tiere, Typ A

Diese Hähne und Hennen wurden mit etwa vier Monaten operiert; bei drei Tieren wurden die Transplantationen wiederholt. Die weiteren Daten dieser Tiere sind aus Tabelle 4 ersichtlich.

Bei allen Gruppen wurden Spender und Empfänger nach ihrem Gewicht und nach dem Typ (Lege- oder Masttyp) ausgesucht, um eine möglichst gleiche Stärke der Hautstücke zu erhalten.

Ergebnisse

Tabelle 2Transplantationsdaten

K o n t r o l l t i e r e

<u>Flügelm.</u>	<u>Schlupf</u>	<u>Transpl.</u>	<u>Geschlecht</u>	<u>Typ</u>	<u>Abstoßung</u>
3393	3.6.70	29.6.71	männl.	Lege-	10.Tag
1133	27.11. 70	29.6.71	weibl.	Lege-	7.Tag
2223	24.11. 69	5.7.71	weibl.	Lege-	8.Tag
3391	3.6.70	5.7.71	weibl.	Lege-	10.Tag
792	21.4.71	12.7.71	weibl.	Lege-	9.Tag
796	21.4.71	12.7.71	weibl.	Lege-	9.Tag
783	21.4.71	12.7.71	weibl.	Lege-	9.Tag
791	21.4.71	12.7.71	männl.	Lege-	9.Tag
782	7.4.71	19.7.71	männl.	Lege-	8.Tag
781	7.4.71	19.7.71	weibl.	Lege-	10.Tag
600	7.4.71	20.7.71	männl.	Lege-	9.Tag
798	21.4.71	20.7.71	männl.	Lege-	7.Tag
A	1.3.71	20.7.71	männl.	Broiler	9.Tag
B	1.3.71	20.7.71	weibl.	Broiler	7.Tag
C	1.3.71	20.7.71	weibl.	Broiler	9.Tag
D	1.3.71	20.7.71	weibl.	Broiler	8.Tag
E	1.3.71	20.7.71	männl.	Broiler	9.Tag
F	1.3.71	20.7.71	weibl.	Broiler	9.Tag

Flügelm. = Flügelmarke

Schlupf = Schlupfdatum

Transpl. = Transplantationsdatum

Lege- = Legetyp

männl. = männlich

weibl. = weiblich

Abstoßung = Zeitpunkt der Allotransplantat-Abstoßung

Ergebnisse

Tabelle 3Transplantationsdaten

Chirurgisch bursektomierte
Mü h n e r

I.E.

Flügelm.	Schlupf.	Transpl.	Geschlecht	G	M	Abstoßung
185	9.3.71	22.7.71	weibl.	-	2+	9.Tag
190	9.3.71	23.7.71	weibl.	-	1+	7.Tag
4401	9.3.71	23.7.71	weibl.	-	1,5+	9.Tag
4403	9.3.71	22.7.71	weibl.	-	1+	10.Tag
192	9.3.71	23.7.71	weibl.	-	2+	9.Tag
194	9.3.71	23.7.71	weibl.	-	2+	9.Tag

Flügelm. = Flügelmarke

Schlupf. = Schlupfdatum

Transpl. = Transplantationsdatum

weibl. = weiblich

Abstoßung = Zeitpunkt der Allotransplantat-Abstoßung

I.E. = Immunelektrophorese vom 18.8.71

G = Immunglobulin G = IgG

M = Immunglobulin M = IgM

Ig G: - < 50 mg/100 ml Serum

1+ = 50-200 mg/100 ml Serum

2+ = 200-500 mg/100 ml Serum

3+ > 500 mg/100 ml Serum (normaler Titer)

Ig M: - < 35%

1+ = 150% (normaler Titer)

2+ > 200%

3+ > 800%

Diese Werte entsprechen der einfachen radialen Immun-
diffusion nach Mancini (s. GRUBER ;27)

Tabelle 4Transplantationsdaten

Dysgamma globulinämische Tiere

Immunglob. Status

6.7. 15.9.

Flm.	Schlupf	Transpl.	Geschl.	G	M	G	M	Abstoßung
4438	21.4.71	26.7.71	männl.	-	-	-	+	11.Tag
4436	21.4.71	26.7.71	weibl.	-	1,5+	-	2+	11.Tag
4432	21.4.71	26.7.71	weibl.	1,5+	1,5+	2+	+	11.Tag
4431	21.4.71	26.7.71	männl.	1,5+	2+	+	+	11.Tag
4435	21.4.71	28.7.71	weibl.	-	2+	-	+	9.Tag
4437	21.4.71	28.7.71	weibl.	2+	1,5+	2+	+	9.Tag
4415	5.5.71	2.8.71	weibl.	-	3+	-	2+	angegangen
4417	5.5.71	2.8.71	weibl.	+	+	2+	+	9.Tag
4427	5.5.71	2.8.71	männl.	-	+	-	+	9.Tag
4425	5.5.71	2.8.71	männl.	-	2+	-	2+	9.Tag
4428	5.5.71	3.8.71	männl.	-	+	-	+	13.Tag
4429	5.5.71	3.8.71	weibl.	-	+	-	+	9.Tag
4421	5.5.71	5.8.71	weibl.	-	2+	+	2+	22.Tag
4426	5.5.71	6.8.71	weibl.	-	2+	-	2+	10.Tag
4418	5.5.71	6.8.71	weibl.	-	2+	-	+	10.Tag
4433	21.4.71	9.8.71	weibl.	+	+	+	+	10.Tag
x 4415	5.5.71	31.8.71	weibl.	-	3+	-	2+	13.Tag
x 4415	5.5.71	31.8.71	weibl.	-	3+	-	2+	angegangen
x 4421	5.5.71	31.8.71	weibl.	-	2+	+	2+	9.Tag
x 4421	5.5.71	31.8.71	weibl.	-	2+	+	2+	10.Tag

Flm. = Flügelmarke

Schlupf = Schlupfdatum

Transpl. = Transplantationsdatum

Geschl. = Geschlecht; männl.=männlich; weibl.=weiblich

Immunglob.Status = Immunglobulinstatus vom 6.7.71 und 15.9.71

G = Immunglobulin G = IgG ; M = Immunglobulin M = IgM

Ig G:

Ig M:

- < 50 mg/100 ml Serum

- < 35%

+ = 50-200 mg/100 ml Serum

+ = 150% (n.T.)

2+ = 200-500 mg/100 ml Serum

2+ > 200%

3+ > 500 mg/100 ml Serum (n.T.)

3+ > 800%

Diese Werte entsprechen der einfachen radialen Immundiffusion nach Mancini (s.Gruber;27). n.T. = normaler Titer

x = Wiederholung der Transplantation

Aus den Tabellen 2-4 geht hervor, daß die Allo-transplantate in allen Fällen⁺ abgestoßen wurden, während gleichzeitig die Autotransplantate störungsfrei einheilten. Dabei zeigten sich in der Geschwindigkeit der Allotransplantatabstoßung keine Unterschiede, deren Ursachen sich auf Alter, Geschlecht oder Hühnertyp zurückführen ließen.

Bei allen Gruppen waren am 9. Tag die meisten Transplantate abgestoßen. Während aber bei den Kontrolltieren und den chirurgisch bursektomierten Hühnern am 10. Tag nach der Transplantation alle Allotransplantate abgestoßen waren, wurden bei den dysganmaglobulinämischen Tieren einige Transplantate erst am 11. Tag abgestoßen⁺.

Tabelle 5 zeigt, daß bei allen Gruppen die meisten Transplantate am 9. und 10. Tag nach der Transplantation abgestoßen wurden.

+ = bei zwei Tieren gab es Abweichungen. Es handelt sich um die nachfolgend erwähnten Tiere Nr. 4415 und Nr. 4421.

Tabelle 5

<u>Tiere</u>	<u>Abstoßungen am 9.+10.Tag (%)</u>
Kontroll.	66%
chir.burs.T.	83%
dys.T.	65%

Tabelle 5: Prozentsatz der Allotransplantat-
abstoßungen am 9. und 10. Tag nach
der Transplantation bei den ver-
schiedenen Gruppen

zu Tabelle 5:

Kontroll. = Kontrolltiere

chir.burs.T. = chirurgisch bursektomierte Tiere

dys.T. = dysgammaglobulinämische Tiere

Eine Wiederholung der Transplantationen wurde
bei den Tieren Nr.4415 und Nr.4421 notwendig,
da sich beide Tiere in der Abstoßungsgeschwin-
digkeit der Allotransplantate deutlich von
dem Durchschnitt der Gruppe unterschieden.
Beide Tiere erhielten beim zweiten Mal nur
Allotransplantate und zwar je eines von einem
nicht verwendeten Tier (es handelte sich um
ein HNL-Huhn) und das zweite vom Partner.

Bei der ersten Transplantation fand der
Gewebeaustausch in beiden Fällen zwischen Voll-

geschwistern statt: Nr.4415 und Nr.4417 sowie Nr. 4421 und Nr.4422 , alle vier Tiere sind vollgeschwister (Vater Nr.1135,Mutter Nr. 3398).

Die Ergebnisse der zweiten Operation änderten sich dahingehend, daß das Huhn Nr.4421 das Transplantat vom HNL-Huhn am 9.Tag und das von Nr.4415 stammende Transplantat am 10.Tag abstieß. Nr.4415 stieß das HNL-Transplantat am 13. Tag ab, akzeptierte aber wiederum das Gewebe des Vollgeschwisters.

Ausführliche Beurteilung

Bei den Transplantatreaktionen zeigt sich folgendes Bild:

Auto - und Allotransplantat ähneln sich deutlich in ihrem Aussehen und ihrer Konsistenz zwischen dem ersten und dem siebenten oder achten Tag.

Am ersten Tag nach der Transplantation weisen sie die gleiche Farbe wie das umgebende Gewebe auf, und ihre Konsistenz ist weich und elastisch und unterscheidet sich nicht von der normaler Hühnerhaut.

Abbildung Nr.2

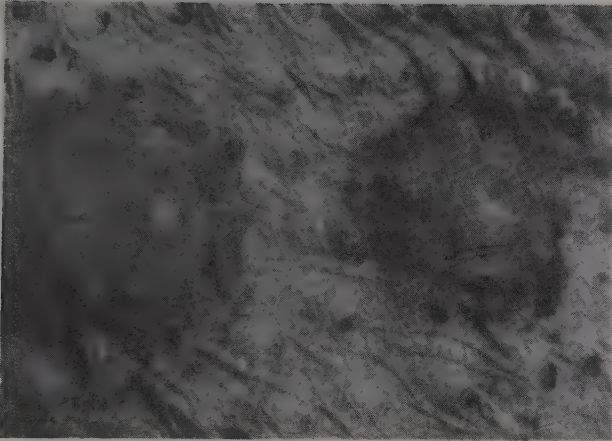


Abbildung Nr.2 : Zustand der Transplantate
am sechsten Tag nach der
Transplantation.
Autotransplantat links,
Allotransplantat rechts.
2-fache Vergrößerung!

Zwischen dem zweiten und dem sechsten Tag
beginnen beide Transplantate ödematös anzu-
schwellen. Sie zeigen eine teigig-weiche Kon-
sistenz und erheben sich ab dem dritten Tag
deutlich über das Niveau der umgebenden Haut.
Ihre Farbe zeigt einen bräunlichen Schimmer;
oft glänzt die prominenteste Stelle. An der
Grenze zum gesunden Gewebe ist der Histoacryl-
Saum als deutlich blauer Schorf zu erkennen.

Am siebenten oder achten Tag beginnt das Ödem des A u t o transplantates abzunehmen und das Transplantat sinkt auf das Niveau der umgebenden Haut zurück. Seine Farbe wird wieder gelblicher und die Färbung der normalen Hühnerhaut ist deutlich erkennbar. Die Konsistenz ist weich, nicht mehr teigig und unterscheidet sich kaum noch von der der anderen Haut. (Siehe hierzu die folgenden Abbildungen vom achten Tag nach der Transplantation!)

Das A l l o transplantat beginnt zu diesem Zeitpunkt tiefer braun zu werden, es bleibt erhöht und seine Konsistenz ist noch teigig-weich.

Abbildung Nr.3

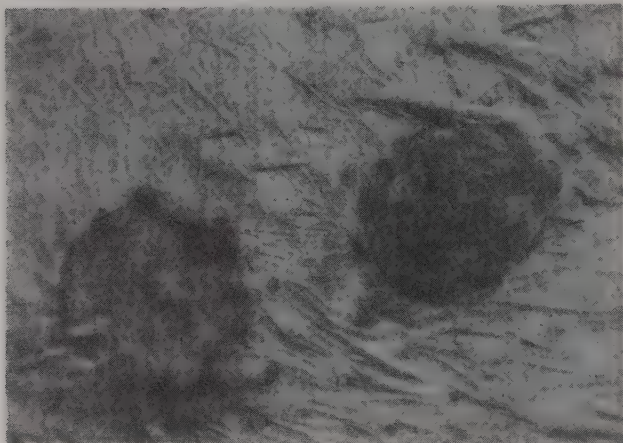


Abbildung Nr.3: Zustand der Transplantate am achten Tag nach der Transplantation bei einem Kontrolltier.

Abbildung Nr.4

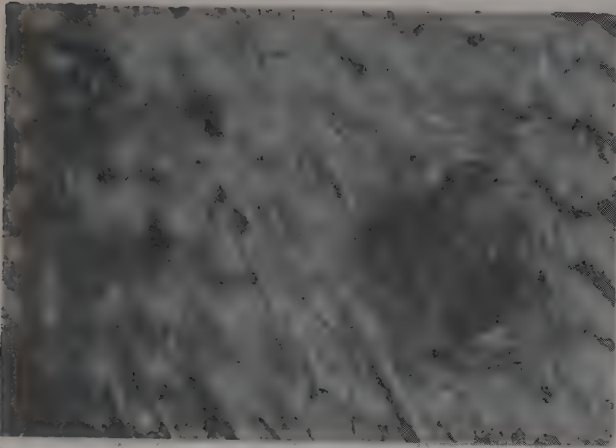


Abbildung Nr.4 :Zustand der Transplantate am
achten Tag bei einem dysgamma-
globulinämischen Huhn

Abbildung Nr.5

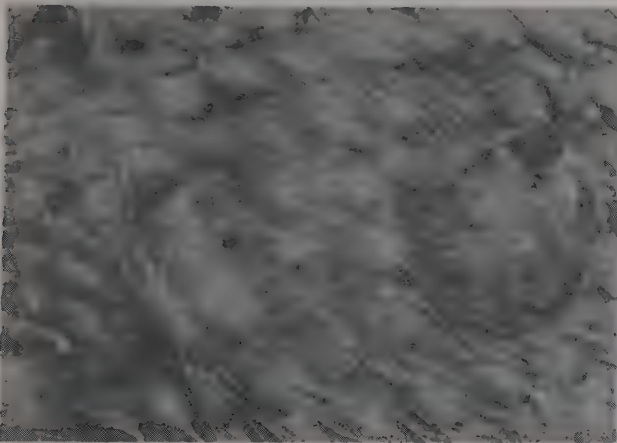


Abbildung Nr.5: Zustand der Transplantate am
achten Tag bei einem chirurg-
isch bursektomierten Tier.

Zu den Abbildungen 3-5:

Alle Abbildungen liegen in 2-facher Vergrößerung vor.

In allen Fällen liegt das Autotransplantat links und das Allotransplantat rechts.

Histoacryl - Reste sind an der blauen Farbe gut zu erkennen.

Am neunten oder zehnten Tag ist das A_u_t_o-transplantat in Farbe und Konsistenz von normaler Haut nicht mehr zu unterscheiden, aber ein deutlicher Ring von Histoacryl - vor allem der blaue Farbstoff - kennzeichnet die Stelle.

Das A_l_l_o transplantat verändert jetzt seine Konsistenz. Es wird schorffähnlich fest und hart, bildet Borken und Krusten. Die Farbe des nekrotischen Gewebes ist braunschwarz oder schwarz.

Zu diesem Zeitpunkt wird das Transplantat als abgestoßen beurteilt!

Siehe hierzu die folgenden Abbildungen vom neunten Tag nach der Transplantation.

Das Allotransplantat - in allen Fällen wieder rechts - ist schorffähnlich, trocken und schwarz gefärbt. Zum gleichen Zeitpunkt ist das Autotransplantat - links - von normaler Farbe und Konsistenz (in einem Fall noch leicht ödematös).

Abbildung Nr.6

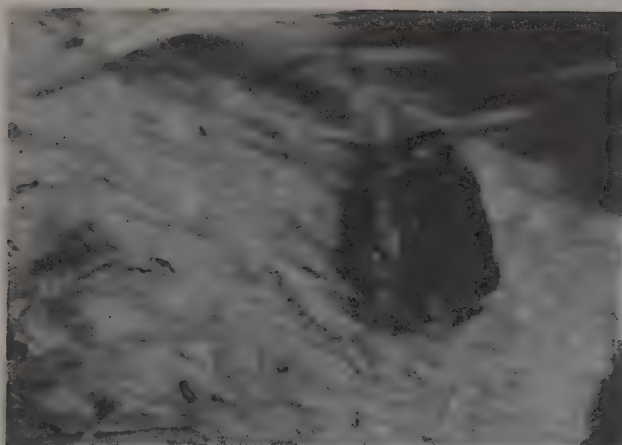


Abbildung Nr.6: Zustand der Transplantate am
neunten Tag bei einem Kontroll-
Tier.

Abbildung Nr.7

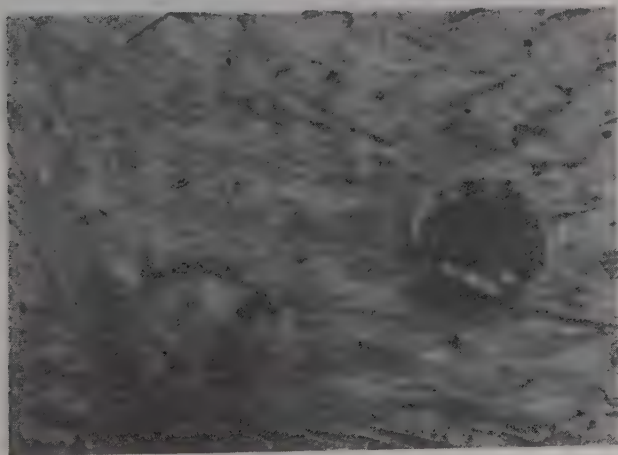
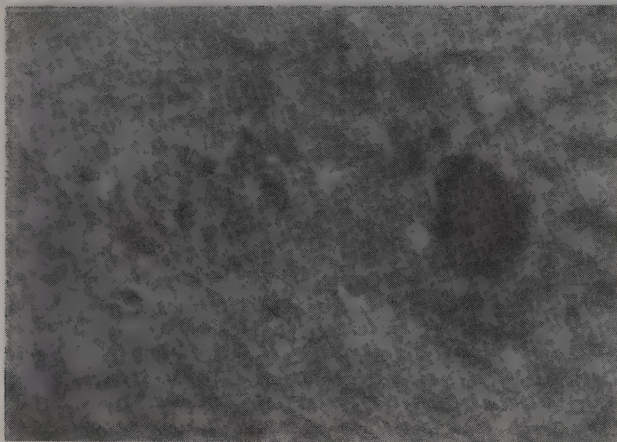


Abbildung Nr.7: Zustand der Transplantate am
neunten Tag bei einem dysgamma-
globulinämischen Tier.

Abbildung Nr.8



**Abbildung Nr.8: Zustand der Transplantate am
neunten Tag bei einem chirurgisch
bursektomierten Huhn.**

Zu den Abbildungen 6-8:

Die Abbildungen sind zweifach vergrößert.

**In allen Fällen liegt das Autotransplantat
links und das Allotransplantat rechts.**

**Die Reste des Gewebeklebers sind an der blauen
Farbe zu erkennen.**

In der folgenden Zeit wird das Histoacryl vollständig resorbiert und das Autotransplantat wird nur noch von einem sehr feinen Ring zwischen normalem Gewebe und Transplantat gekennzeichnet. Siehe Abbildung Nr.9.

Abbildung Nr.9

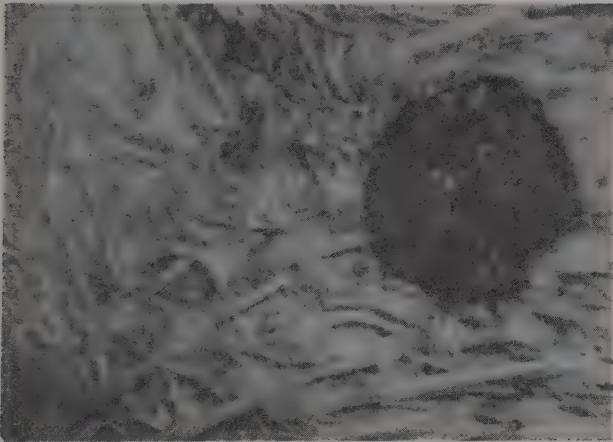


Abbildung Nr.9: Zustand der Transplantate am 14.Tag nach der Transplantation. Das Autotransplantat - links oben - ist kaum noch zu erkennen, nur ein schmaler Saum und etwas Histoacryl kennzeichnen das Transplantat.
2-fache Vergrößerung

Der Schorf des abgestoßenen Allotransplantates fällt zwischen dem zwölften und dem zwanzigsten Tag ab. Darunter hat sich eine Narbe gebildet.

Narbengewebe ist deutlich an der veränderten Struktur des Gewebes erkennbar. Statt der Felderung der Hühnerhaut mit den eingelagerten erhöhten Federanlagen findet man hier eine glatte, rot-glänzende Fläche, die radiäre Falten aufweist. Das Gewebe ist derb und verkleinert sich, wodurch die radiäre Fältelung zunimmt.

Anders als bei der Transplantatabstoßung verläuft der Prozeß dann, wenn das Gewebe aus verschiedenen Gründen erst gar nicht anwächst. Während das Allotransplantat noch einige Tage vital bleibt und erst von dem Empfänger abgestoßen werden muß, stirbt geschädigtes Gewebe sofort ab.

Der Grund der Schädigung lag meistens in schlechter Verbandstechnik. Entweder klebte der Verband - vor allem der Fliegendrahtverband - auf dem Transplantat fest und riß es ab, oder es war den Tünnern möglich, den Verband abzureißen und das Transplantat auf - oder abzurücken.

Das Hautstück ist dann schon Stunden später trocken und hart. Die Farbe ist entweder bern-

steingelb oder - meistens - schwarz bzw. braunschwarz. Das anfangs farblose Wundsekret wird zunehmend bernsteingelb und zellhaltiger.

Es schließt sich darauf eine normale Wundheilung mit Granulationsgewebe und Narbenbildung an.

Ergebnisse der 'Graft versus host-Reaktion'

Im ersten Teil des Versuches wurde die Fähigkeit der Immunkompetenz von Milzzellen normaler, chirurgisch bursektomierter und dysgamma-globulinämischer Hühner mit Hilfe der 'Graft versus host-Reaktion' festgestellt.

Als Empfänger dienten HNL-Eintagsküken und 12 Tage alte HNL-Küken. Es wurden Gruppen zu 13 bis 15 Tieren gebildet.

Im einzelnen erhielten:

Tabelle 6

Gruppe	Anzahl	Hühnertyp	Alter	Milzsuspension von:
A	13	Leghorn	Eintagsküken	Kontrolltieren
B	13	Leghorn	Eintagsküken	chir.burs.Hühnern
C	14	Leghorn	Eintagsküken	dys.Hühnern
A	14	Leghorn	12 Tage Küken	Kontrolltieren
B	14	Leghorn	12 Tage Küken	chir.burs.Hühnern
C	15	Leghorn	12 Tage Küken	dys.Hühnern

Übersicht über die Verteilung der Milzzellsuspensionen

zu Tabelle 6:

chir.burs. = chirurgisch bursektomiert

dys. = dysgamma-globulinämisch

Die Kontrollgruppen erhielten keine Milzzellen!

Anzahl der Kontroll-Küken:

14 Leghorn-Eintagsküken

14 Leghorn- 12 Tage alte Küken

Tabelle 7

Anzahl der Küken, die wenige Tage nach der Injektion der Milzzellsuspension starben:

Eintagsküken:

<u>Gruppe</u>	<u>Anzahl</u>
Kontrollen	0 Tiere
Gruppe A	4 Tiere
Gruppe B	9 Tiere
Gruppe C	6 Tiere

12 Tage alte Küken:

<u>Gruppe</u>	<u>Anzahl</u>
Kontrollen	1 Tier
Gruppe A	1 Tier
Gruppe B	1 Tier
Gruppe C	1 Tier

Nachdem die Küken sieben Tage nach der Injektion gewogen worden waren, wurden sie getötet und das Gewicht der Milz festgestellt. Aus dem Verhältnis des Milzgewichtes in mg zu dem Körpergewicht in g ergab sich der "Graft versus host-Index".

Der "Chimeric-Index" stellte das Verhältnis des "Graft versus host-Index" der Versuchsgruppe zu dem der Kontrollgruppe dar.

Tabelle 8

Ergebnisse der "Graft versus host-Reaktion" bei Eintagsküken:

Gruppe	Anzahl	Zellzahl	KG (g)	MG (mg)	GVH-I	Chim.-I
Kontr.	14	0	53,4	43	0,70	-
A	9	1×10^8	50,1	66	1,31	1,86
B	4	1×10^8	53,6	80	1,50	2,14
C	8	1×10^8	46,6	76	1,63	2,32

Ergebnisse der "Graft versus host-Reaktion" bei 12 Tage alten HNL-Küken:

Gruppe	Anzahl	Zellzahl	KG (g)	MG (mg)	GVH-I	Chim.-I
Kontr.	13	0	127	294	2,29	-
A	13	7×10^8	123,1	303,8	2,44	1,065
B	13	7×10^8	123,2	321,5	2,61	1,139
C	14	7×10^8	111,7	281,4	2,42	1,056

Zu Tabelle 8:

Eintagsküken = 1+7 Tage alte Küken

12 Tage alte Küken = 12+7 Tage alte Küken

Kontr. = Kontrollgruppe, erhielt keine Zellen injiziert

A = Gruppe A, erhielt Milzzellen von normalen Hühnern

B = Gruppe B, erhielt Milzzellen von chirurgisch bursektomierten Hühnern

C = Gruppe C, erhielt Milzzellen von dysgammaglobulinämischen Hühnern

Anzahl = Anzahl der sieben Tage nach der Injektion noch lebenden Küken

Zellzahl = Anzahl der injizierten Milzzellen

KG (g) = Körpergewicht der Küken in Gramm am Tötungstag

MG (g) = Milzgewicht in Milligramm

GVH-I = Graft versus host-Index

Chim.-I = Chimeric-Index

$$= \frac{\text{GVH-I d. Testgruppe}}{\text{GVH-I d. Kontrollgruppe}}$$

$$\text{GVH-I} = \frac{\text{Milzgewicht in mg}}{\text{Körpergewicht in g}}$$

Wie aus der vorstehenden Tabelle ersichtlich ist, war bei allen Eintagsküken eine ausgeprägte Splenomegalie auf die Injektionen der verschiedenen Milzzellsuspensionen hin vorhanden.

Im Durchschnitt lag eine Verdoppelung des relativen Milzgewichtes vor.

Die Gruppen der 12 Tage alten Küken unterschieden sich in ihren Durchschnittsmilzgewichten kaum, wenn auch bei allen Gruppen eine geringe Splenomegalie feststellbar war.

Im zweiten Teil des Versuches wurde die Fähigkeit der dysgammaglobulinämischen Küken zur "Graft versus host-Reaktion" untersucht.

Milzspender waren normale erwachsene Kontrolltiere.

Von den zur Verfügung stehenden 13 Eintagsküken wurden 6 Tiere getestet, 7 Küken dienten als Kontrolltiere. Ein Testküken starb vier Tage nach der Injektion von 1×10^8 Milzzellen.

Die Gruppe der 12 Tage alten dysgammaglobulinämischen Küken bestand aus 10 Tieren.

Von den 5 Testtieren starb ein Tier einen Tag nach der Injektion von 7×10^8 Milzzellen.

In der Kontrollgruppe waren ebenfalls 5 Küken.

Bei der Einteilung in Test- und Kontrollgruppen wurde darauf geachtet, daß Geschwister zu gleichen Teilen auf die Gruppen verteilt wurden.

Ergebnisse

Die "Graft versus host-Versuche" mit den dys-
gammaglobulinämischen Küken ergaben folgende
Werte:

Tabelle 9

Eintagsküken:

Gruppe	Anzahl	Zellzahl	KG (g)	MG (mg)	GVH-1	Chim.-1
Kontr.	7	0	59,1	44	0,744	-
Test	5	1×10^8	61,1	64	1,041	1,4

12 Tage alte Küken:

Gruppe	Anzahl	Zellzahl	KG (g)	MG (mg)	GVH-1	Chim.-1
Kontr.	5	0	148	270	1,82	-
Test	4	7×10^8	129	285	2,21	1,21

Zu Tabelle 9:

Eintagsküken = 1+7 Tage alte Küken

12 Tage alte Küken = 12+7 Tage alte Küken

Kontr. = Kontrollgruppe, erhielt keine Zellen injiziert

Test = Testgruppe

Anzahl = Anzahl der 7 Tage nach der Injektion noch lebenden
Küken

Zellzahl = Anzahl der injizierten Milzzellen

KG (g) = Körpergewicht in Gramm am Tötungstag

MG (mg) = Milzgewicht in Milligramm

GVH-1 = Graft versus host-Index = $\frac{\text{Milzgewicht in mg}}{\text{Körpergewicht in g}}$

Chim.-1 = Chimeric-Index = $\frac{\text{GVH-1 d. Testgruppe}}{\text{GVH-1 d. Kontrollgruppe}}$

Aus der Tabelle 9 geht hervor, daß die Milzen
der dysgammaglobulinämischen Eintagsküken ebenso
wie die der 12 Tage alten Küken im Vergleich zu
den Kontrollmilzen vergrößert waren.

V. Diskussion

=====

Aus den Ergebnissen geht hervor, daß sowohl die Vertreter der erblich dysgammaglobulinämischen Zuchtlinie als auch die von uns untersuchten chirurgisch bursektomierten Hühner in der Lage sind, zellvermittelte Immunreaktionen durchzuführen.

Ein Vergleich mit den Kontrolltieren ergab, daß die dysgammaglobulinämischen Hühner, die ein hochgradiges Immunglobulin G-Defizit aufweisen, bis auf eine Ausnahme (s.u.) eine normale Transplantatabstoßungsreaktion zeigten (s.Tab. 2-4).

Wie auch aus den Abbildungen 2-9 ersichtlich ist, wiesen die dysgammaglobulinämischen Hühner in der Art und der Intensität der Abstoßung keinen Unterschied zu den normalen Kontrolltieren und den vergleichend untersuchten chirurgisch bursektomierten Hühnern (s.Tab.3) auf. Die Allotransplantate aller Gruppen durchliefen gleichartig die verschiedenen Stufen (Ödem, Zyanose, Nekrose) der Abstoßungsreaktion. Lediglich im zeitlichen Ablauf kam es bei der Gruppe der dysgammaglobulinämischen Hühner zu einer leichten Verzögerung von ca. 24 Stunden. Wie aber Tabelle 5 zeigt, wurden

am 9. und 10. Tag bei allen Gruppen die meisten Transplantate abgestoßen (bei den Kontrolltieren 66%, bei den dysgammaglobulinämischen Hühnern 65% und bei den chirurgisch burssektomierten Tieren 83%). Nur waren bei den Kontrollhühnern und den chirurgisch burssektomierten Tieren am 10. Tag alle Transplantate abgestoßen, während die dysgammaglobulinämischen Hühner noch am 11. Tag (20%) und am 13. Tag (10%) Allotransplantate abstießen.

Diese verzögerte Transplantatabstoßung kann auf einer geringeren Histokompatibilitäts-Differenz beruhen. PEREY et al. (31) konnten zeigen, daß bei geringen Histokompatibilitäts-Differenzen zwischen Spender und Empfänger ein verlängertes Überleben der Transplantate auftrat.

Wurden die Transplantate zwischen Vollgeschwistern des Versuchstierstammes, der schon einen gewissen Inzuchtgrad aufweist, ausgetauscht, so kam es in einem Einzelfall vor, daß das Allotransplantat akzeptiert wurde - Nr.4415 -. Auch eine größere Verzögerung in der Abstoßungsgeschwindigkeit wurde in einem Fall - Nr.4421 - beim Austausch von Transplantaten zwischen Vollgeschwistern beobachtet.

Die allgemeine leichte Verzögerung bei den dysgammaglobulinämischen Tieren läßt sich auch noch auf folgenden Umstand zurückführen: Zirkulierende zytotoxische Antikörper haben zwar keinen primären Einfluß auf die "first set reaction" in der Transplantatabstoßung (18, 32, 17, 13), es ist aber nicht auszuschließen, daß die Anwesenheit von Antikörpern die Abstoßung verändern -bzw. beschleunigen kann.

WARNER (12) beschrieb, daß bei hormonell burs-ektomierten Küken eine normale Transplantatabstoßung auch beim Fehlen von spezifischen Antikörpern stattfand, die Anwesenheit von Antikörpern aber die Abstoßung beschleunigen konnte.

Chirurgisch bursektomierte Tiere, mit denen MARVANOVÁ (13) und PEREY et al. (31) arbeiteten, stießen die Allotransplantate am 9. und 10. Tag nach der Transplantation ab.

Demgegenüber beschrieben verschiedene Autoren (18, 32, 8, 13) eine verzögerte Transplantatabstoßung über den 25. Tag p.op. hinaus bei Thymektomie und nachfolgender Bestrahlung der Tiere.

Die vorliegenden Ergebnisse zeigten also, daß erblich dysgammaglobulinämische Tiere die Allotransplantate ohne Schwierigkeiten in normaler

Reaktionsfolge abstoßen konnten.

Auch bezüglich der "Graft versus host-Reaktion" (Tabelle 8-9) kann festgestellt werden, daß die erblich dysgammaglobulinämischen Hühner normgerechte Reaktionen durchführten.

Im ersten Teil der Versuche zur "Graft versus host-Reaktion" wurden normalen Küken Milzzellsuspensionen injiziert, die von verschiedenen erwachsenen Hühnern stammten (Spender waren: normale Kontrolltiere, chirurgisch bursektomierte Hühner und dysgammaglobulinämische Tiere).

Die aus Tabelle 8 zu entnehmenden Daten zeigen bei den Küken auf alle Suspensionen hin eine normale "Graft versus host-Reaktion". Die Werte des "Chimeric-Index", der das Verhältnis des "Graft versus host-Index" der Testgruppe zu dem der Kontrollgruppe darstellt, stimmen mit Angaben von PAPERMASTER et al. (26) überein. Sie erzielten bei normalen Eintagsküken einen "Chimeric-Index" von 1,85 und bei normalen 12 Tage alten Küken einen Index von 1,3.

Wie aus Tabelle 8 ersichtlich, reagierten die Eintagsküken mit einer wesentlich stärkeren Splenomegalie als die 12 Tage alten Küken. Das spricht dafür, daß das Immunsystem der Eintagsküken unreifer ist als das der 12 Tage alten Tiere.

Die Ergebnisse dieses Versuches beweisen, daß die Milzzellen der unterschiedlichen Spender (Kontrolltiere, chirurgisch bursektomierte Hühner, dysgammaglobulinämische Tiere) gleicherweise vollständig dazu in der Lage sind, bei den Küken eine "Graft versus host-Reaktion" in normalem Umfang hervorzurufen.

Die etwas höheren Werte bei der Zellinjektion von chirurgisch bursektomierten und dysgammaglobulinämischen Spendern werden darauf zurückgeführt, daß in beiden Gruppen mehrere Tiere starben - wahrscheinlich (wie unten ausgeführt) aufgrund einer übertragenen Infektion - so daß nur noch die stärksten Tiere übrigblieben, die sich gleichzeitig noch mit der Infektion auseinandersetzen mußten.

Als Todesursache im Verlauf der "Graft versus host-Reaktion" (s.Tab.7) kommt nach Untersuchungen von HOWARD (43) - neben der Möglichkeit einer Infektion durch das übertragene Zellmaterial - eine erhöhte Empfindlichkeit der Tiere gegen Endotoxine in Frage.

Von den Symptomen der "Runt disease" (Kümmeren, Anämie, Diarrhoe, Spleno- und Hepatomegalie usw. - SIMONSEN (16)) zeigten die sterbenden Tiere in einigen Fällen Durchfall - der aller-

dings auch bei manchen überlebenden Küken vorhanden war. Offensichtlich starben die leichtesten Tiere der Gruppe. Bei den Eintagsküken wogen die toten Tiere im Durchschnitt 41 g, während das Durchschnittsgewicht ihrer lebenden Altersgenossen 47 g betrug.

Eine deutliche Spleno- oder Hepatomegalie war nicht feststellbar.

Als Folge einer offensichtlichen Infektion durch die Milzzellsuspension starben in einem anderen Versuch alle sieben dysgammaglobulinämischen Eintagsküken zwei Tage nach der Injektion, während die sieben Kontrollküken, die zusammen mit den Testküken gehalten wurden, aber nur eine Injektion von EARLE-Medium erhalten hatten, gesund blieben.

Im zweiten Teil der Versuche zur "Graft versus host-Reaktion" wurde das Verhalten von dysgammaglobulinämischen Küken auf die Zellinjektion normaler Spendermilzzellen hin untersucht.

Wie aus Tabelle 9 ersichtlich, reagierten die erblich dysgammaglobulinämischen Eintagsküken stärker auf die injizierten Milzzellen als die 12 Tage alten dysgammaglobulinämischen Tiere. Dies kann - wie PAPERMASTER et al. (26) be-

schrieben - auf eine in diesem Alter noch nicht voll entwickelte Transplantationsimmunität zurückgeführt werden. Die 12 Tage alten Küken zeigten dagegen kaum eine Splenomegalie, das bedeutet, daß in diesem Alter die Fähigkeit injizierte Milzzellen abzustößen, schon gut entwickelt ist.

Ein Vergleich mit den Ergebnissen an experimentell bursektomierten Tieren zeigt, daß MARVANNOVA (13) zu den gleichen Resultaten kam, während in früheren Arbeiten von PAPERMASTER et al. (26) und SZENBERG u. WARNER (17) andere Werte veröffentlicht wurden. Dazu muß bemerkt werden, daß die Tests bei den früheren Untersuchungen an hormonell bursektomierten Küken vorgenommen wurden, während MARVANNOVA Küken verwandte, die nach dem Schlupf chirurgisch bursektomiert wurden. Die deutliche Schwächung der Abstoßungsfähigkeit von 12 Tage alten hormonell bursektomierten Tieren, die von der Autorengruppe beschrieben wurde, scheint eine Auswirkung des frühen und generalisierten Eingriffs der hormonellen Behandlung zu sein, der offenbar nicht nur auf die Bursa beschränkt ist. (Die hormonelle Bursektomie mit 19-Nortestosteron - oder anderen Steroiden - wird im frühen Embryonalstadium durch Injektion

oder Tauchen der Eier durchgeführt, 17, 26).

MARVANOVA fand bei den chirurgisch burs-
ektomierten Küken folgende "Chimeric-Indices":
für Eintagsküken einen Index von 1,6 und bei
den 12 Tage alten Tieren einen Index von 1,29.
Diese Werte stimmen weitgehend mit den bei
den dysgammaglobulinämischen Küken vorgefunde-
nen Ergebnissen überein.
Die Ergebnisse der "Graft versus host-Reaktion"
waren also in allen Fällen normgerecht.

In diesem Zusammenhang sollen Ergebnisse hin-
sichtlich der Allergie vom verzögerten Typ
- am Beispiel der Tuberkulinreaktion - zitiert
werden. Sowohl erblich dysgammaglobulinämische
als auch hormonell bursektomierte Hühner be-
antworteten nach Sensibilisierung die Tuber-
kulininjektion mit einer positiven Hautreak-
tion, (LÖSCH, unveröffentlicht, 6).

Die Ubereinstimmung des humoralen Immundefek-
tes bei erblich dysgammaglobulinämischen Hühnern
auf der einen und experimentell bursektomierten
Tieren auf der anderen Seite wurde von

BRÜGGEMANN und Mitarbeitern bereits beschrieben (2, 3, 4). In beiden Fällen treten die eingangs beschriebenen Immunglobulinmuster (Hypo- und Dysgammaglobulinämien) und Antikörpermangel-syn-drome, z.T. vergesellschaftet mit sogenannten Normogammaglobulinämien auf. Auch die mit physikalischen Methoden erhobenen Befunde über die Verschiebung der Serumproteinanteile ähneln sich hochgradig (5, 29, 30).

Die vorgelegten Ergebnisse zeigen nun, daß auch bezüglich der zellvermittelten Immunreaktionen eine weitgehende Übereinstimmung zwischen den erblich dysgammaglobulinämischen und den experimentell bursektomierten Hühnern besteht.

Aus den Ergebnissen verschiedener Autoren geht hervor, daß sowohl chirurgisch als auch hormonelle bursektomierte Hühner Transplantate fristgemäß abstoßen (7, 13, 31, 32), die "Graft versus host-Reaktion" normgerecht durchführen (7, 25, 8, 13) und auch nach entsprechender Sensibilisierung mit einer Allergie vom verzögerten Typ reagieren (33, 8). Zwar beschrieben WARNER , SZENBERG und BURNET (7a), daß die hormonelle Bursektomie die ver-

zögerte Hypersensitivität unterdrückt, es ist aber anzunehmen, daß in diesem Fall dosis und Zeitpunkt der Testosteronapplikation (25 mg Testosteron, 12. Brutttag) zu einer Mitbeeinflussung des Thymus führten.

In diesem Zusammenhang soll nochmals auf die einleitend zitierte Theorie von der Dissoziation der immunologischen Reaktionen beim Vogel eingegangen werden.

Aufgrund der Tatsache, daß die hormonelle Entwicklungshemmung der Bursa Fabricii die Antikörperantwort, die Thymektomie des frischgeschlüpften Kükens aber die zellvermittelten Immunantworten unterdrücken, stellten SZENBERG u. WARNER (44) die Dissoziationstheorie auf. GOOD und Mitarbeiter griffen diese Theorie auf und untermauerten sie mit zahlreichen Experimentalbefunden (8, 31, 34, 35).

Die Frage, ob es sich nur um eine teilweise oder um eine vollständige Trennung der zwei Immunsysteme handelt, ist noch nicht ausdiskutiert, WARNER u. SZENBERG (7a) sehen zumindest hinsichtlich der Allergie vom verzögerten Typ (siehe oben) ein Zusammenwirken von Thymus- und Bursasystem. IVANYI u. SALERNO (36) konnten zeigen, daß die volle Antikörperbildung auf

einige Antigene nur bei vorhandenem funktions-tüchtigem Thymus zu erhalten ist.

Andererseits scheinen humorale Antikörper für die Transplantationsimmunität nicht von primärer Bedeutung zu sein, wenn sie auch wahrscheinlich die Abstoßungsgeschwindigkeit beschleunigen (12). PEREY et al. (31) gelang es zwar 1970 erstmalig Transplantationsimmunität passiv zu übertragen, aber nur nach subletaler Bestrahlung der immunen Plasmaspender. PEREY erklärt dies mit einer durch die Bestrahlung erfolgten Zerstörung der Zellen, an die diese Sustanzen, die bei der Übertragung die "second set reaction" + hervorrufen, normalerweise gebunden sind.

Auch wäre die Frage zu stellen, ob für die Bildung spezifischer Antikörper - im Gegensatz zur Immunglobulinbildung per se - (TYAN u. HERZENBERG ;37) - ein Zusammenspiel von T (=Thymus)- und B (=Bonemarrow bzw. Bursa)-Zellen notwendig ist, wie dies für die Säuger beschrieben wurde (siehe Übersicht bei ROITT et al.;38). Sicher ist, daß die Oberflächenantigene der Bursalymphozyten sich von denje-

+ = beschleunigte Transplantatabstoßung bei einer zweiten Übertragung (gleiche Spender und Empfänger).

nigen der Thymozyten ebenso unterscheiden, wie dies bei den B- bzw. T-Zellen der Säuger der Fall ist (RABELLINO u. GREY, 39 und KINCADE u. COOPER, 40).

Aufgrund der Experimentalbefunde an bursektomierten bzw. thymektomierten bzw. burs- und thymektomierten Tieren steht außer Frage, daß beim Vogel eine weitgehende Trennung zwischen Thymus- und Bursasystem besteht, wenn auch graduell unterschiedliche, vielleicht auf bestimmte spezifische Antikörperreaktionen bezogene, Kooperationen beider Systeme nicht auszuschließen sind.

Betrachtet man aus dieser Sicht die hier vorgelegten Ergebnisse, so kann für die an burs-ektomierten Mäusen erhobenen Befunde eine vollständige Übereinstimmung mit den in der Literatur publizierten Experimentalarbeiten gefunden werden.

Hinsichtlich der erblich dysgammaglobulinämischen Mühner kann gesagt werden, daß trotz der hochgradigen Einschränkung der humoralen Immunität die zellvermittelten Immunreaktionen voll intakt sind. Da im Gegensatz zu den so-

genannten bursaabhängigen Regionen in Milz und Tonsilla caecalis (NAGY, 41), die thymusabhängigen Regionen und der Thymus selbst voll funktionsfähig sind, (42), scheint der Schluß gerechtfertigt, daß die erbliche Dysgammaglobulinämie die Folge einer Bursafunktionsstörung darstellt.

VI. Zusammenfassung

Es wurden Ergebnisse über die zellvermittelten Immunreaktionen - Transplantatabstoßung und "Graft versus host-Reaktion" - erblich dysgammaglobulinämischer und chirurgisch bursektomierter Hühner vorgelegt.

- 1.) Die dysgammaglobulinämischen Hühner stießen die Allotransplantate vollständig und in normaler Art und Intensität ab. Es wurden 65% der Transplantate am 9. und 10. Tag, 20% am 11. Tag und 10% am 13. Tag nach der Transplantation abgestoßen.
- 2.) Die vergleichend untersuchten chirurgisch bursektomierten Tiere stießen 85% der Transplantate am 9. und 10. Tag ab.
- 3.) Die im ersten Teil der Versuche zur "Graft versus host-Reaktion" ausgeführten Untersuchungen zur Immunkompetenz verschiedener Milzzellen ergaben folgende Resultate: Sowohl Milzzellen normaler, als auch erblich dysgammaglobulinämischer und chirurgisch bursektomierter erwachsener Hühner waren in der Lage, bei normalen Küken eine normgerechte "Graft versus host-Reaktion" hervorzurufen.

4.) Im zweiten Teil der "Graft versus host-Reaktion" wurde die Fähigkeit erblich dysgammaglobulinämischer Küken zur zellvermittelten Immunreaktion geprüft. Die Resultate zeigten, daß auch hier eine normale Reaktion vorlag.

Diese Ergebnisse wurden im Zusammenhang mit der Theorie von der Dissoziation der Immunreaktionen des Vogels diskutiert.

Aufgrund der vorliegenden Resultate kann der Schluß gezogen werden, daß sich der bei den erblich dysgammaglobulinämischen Mühnern vorliegende Immundefekt auf das Bursasystem beschränkt.

Summary

Results concerning the cell-mediated immunreactions - transplantation and graft versus host-reaction - of hereditary dysgammaglobulinemic and surgically bursectomized chickens are described.

- 1.) The dysgammaglobulinemic chickens completely rejected the homografts in a normal manner and to a normal degree. 65% of the homografts were rejected on the 9-th and 10-th day, 20% on the 11-th day and 10% on the 13-th day after transplantation.
- 2.) The surgically bursectomized chickens, which were operated in comparison, rejected 85% of the homografts on the 9-th and 10-th day.
- 3.) In the first part of the tests to graft versus host-reaction the examination of the immun-competence of different spleen-cells showed the following results:

The spleen-cells of normal, hereditary dysgammaglobulinemic and surgically bursectomized mature chickens were competent to bring about a normal graft versus host-reaction in normal chickens.

4.) The capacity to cell-mediated immunreactions of hereditary dysgammaglobulinemic chickens were tested in the second part of the graft versus host-reaction.

The animals examined showed a normal reaction.

These results were discussed in connection with the theory of the dissociation of avian immunreactions. Judging from the above results, one can conclude that the defect in the immunsystem of hereditary dysgammaglobulinemic chickens is bound to the bursa-system.

Anhang

VII. Anhang

=====

Zusammensetzung der Fertigfutter x

Kükenalleinfutter

31,00% Mais
30,00% Weizen
19,00% Sojaschrot,extr.
4,00% Luzernegrasgrünmehl
3,50% Fischmehl
3,20% Weizenbollmehl
3,00% Maiskleberfutter
2,00% Malzkeime, getr.u.zerkl.
2,00% Mineralstoffmischung
für Geflügel ^{xx}
1,00% Futterfett
1,00% Melasse
0,30% Vitaminvormischung
für Geflügel. ^{xx}

Junhennenaufzuchtfutter

30,00% Mais
23,00% Weizen
9,30% Weizenbollmehl
8,00% Tapiokamehl
7,00% Sojaschrot,extr.
5,00% Weizenkleie
4,00% Maiskleberfutter
4,00% Luzernegrasgrünmehl
2,50% Mineralstoffmischung
für Geflügel ^{xx}
2,00% Fischmehl
2,00% Malzkeime, getr.u.zerkl.
1,00% Tiermehl
1,00% Futterfett
1,00% Melasse
0,20% Vitaminvormischung
für Geflügel ^{xx}

Legehennenalleinfutter

25,00% Mais
21,00% Sojaschrot,extr.
20,00% Weizen
6,00% Tapiokamehl
4,05% Weizenbollmehl
4,00% Luzernegrasgrünmehl
4,00% Mineralstoffmischung
für Geflügel ^{xx}
3,00% kohlens. Futterkalk
2,00% Malzkeime getr.u.zerkl.

2,00% Tiermehl
1,00% Futterfett
1,00% Melasse
0,50% Vitaminvormischung
für Geflügel ^{xx}
0,45% Paprika, gem.

x = Hersteller: Feldmochinger Kraftfutterwerke

Dr. Zentz u. Co. Nachf.

xx = nach DLG-Standard

VII. Literaturverzeichnis
=====

- 1.) Brüggemann, J., Merckenschlager, M., Kirchner, B.,
Lösch, U.
Eine erbliche Hypo- bzw. Dysgammaglobulinämie
beim Haushuhn
Naturwissenschaften 54 , 97 (1967)
- 2.) Brüggemann, J., Friedrich, U., Lösch, U.
Vergleichende Bestimmungen der Immunglobulin-
spiegel genuin dysgammaglobulinämischer und
"hormonell bursektomierter" Hühner
Z. Tierphysiol. 24 , 317 (1969)
- 3.) Brüggemann, J., Friedrich, B., Lösch, U., Schmid, D.O.
Zur Antikörperproduktion dysgammaglobulinä-
mischer Hühner
Z. Immun.-Forsch. 141, 280 (1971)
- 4.) Lösch, U., Hartmann, W., Riedel, G.
Zur Antikörperproduktion dysgammaglobulin-
ämischer Hühner II Präzipitierende Anti-
körper (Anti-HSA)
Z. Immun.-Forsch. 143, 16 (1972)
- 5.) Oberdorfer, A., Lösch, U.
Das sedimentationsanalytische Serumeiweißbild
dysgammaglobulinämischer Hühner (Gallus domesti-
cus)
Hoppe Seyler's Z. physiol.Chem. 351, 1007 (1970)

6.) Lösch, U.

Habil.-Arbeit in Vorbereitung

7a.) Warner, N.I., Szenberg, A., Burnet, F.W.

The immunological Role of different
lymphoid organs in the chicken
I. Dissociation of immunological res-
ponsiveness

Austr. J. exp. Biol. (1962) 40 , 373

7.) Papermaster, B.W., Friedmann, D.J., Good, R.A.

Relationship of the bursa of Fabricius to
immunological responsiveness and homograft
immunity in the chicken

Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 110, 62 (1962)

8.) Cooper, M., Raymond, M., Peterson, D., Good, R.,

The functions of the thymus system and the
bursa system in the chicken

J. exp. Med. 123 , 75 (1966)

9.) Steffen, C.

Allgemeine und experimentelle Immunologie
und Immunopathologie

Georg Thime Verlag, Stuttgart (1968)

10.) Hammer, D.

Evolution des Immunapparates

Klin. Wochschrift. 47 , 1026 (1969)

- 11.) Humphrey, J.H., White, R.G. (Hsg. Macher, E.)
Kurzes Lehrbuch der Immunologie
Georg Thieme Verlag, Stuttgart
- 12.) Warner, N.I.
The immunological role of the avian thymus
and bursa of Fabricius
Folia Biologica 13, 1 (1967)
- 13.) Marvanove, H.
Effect of Eusectomy and Thymectomy on Cellular
Immunological Reactions in Chicken
Folia Mikrobiol. 14, 966 (1969)
- 14.) Ackermann, G.A., Knouff, R.A.
Lymphocytopoiesis in the bursa of Fabricius
Ann. J. Anat. 104, 163 (1959)
- 15.) Murphy, J.
The effect of adult chicken organ grafts
on the chick embryo
J. exp. Med. 24, 1 (1916)
- 16.) Simonsen, M.
The impact on the developing embryo and
newborn animal of adult homologous cells
Acta Path. Microbiol. Scand. 40, 480 (1957)

- 17.) Szenberg, A., Warner, N.L.
Immunological reactions of bursaless fowls
to homograft antigens
Ann. N.Y. Acad. Sci. 120, 150 (1964)
- 18.) Warner, N.L., Szenberg, A.
Effect of neonatal thymectomy on the immun-
response in chicken
Nature 196, 784 (1962)
- 19.) Ortega, L.G., Der, K.B.
Studies of agammaglobulinaemia induced by
ablation of the bursa of Fabricius
Fed. proc. 24, 160 (1965)
- 20.) Thorbecke, G.J.
Some histological and functional aspects
of lymphoid tissue in germfree animals
I. Morphological studies
Ann. N.Y. Acad. Sci. 78, 237 (1959)
- 21.) Merckenschläger, M., Riedel, G., Kirchner, B.,
Löscher, U.
Die Immunglobuline bursektomierter Küken
in der Immunelektrophorese (IE)
Naturwissenschaften 53, 408 (1966)

- 22.) Grabar, P., Williams, C.A.

Méthode permettant l'étude conjuguée des
propriétés électrophorétiques et immuno-
chimiques d'un mélange de protéins;
application au sérum Sanguin
Biochim. biophys. Acta (Amst.) 10, 193 (1953)

- 23.) Scheidegger, J.

Une microméthode de l'immuno-électrophorèse
Int. Arch. Allergy 7, 103 (1955)

- 25.) Warner, N.L., Szenberg, A.

Immunological reactivity of bursaless chicken
in graft versus host-reactions
Nature 199, 43 (1963)

- 24.) Westhues, M., Fritsch, R.

Die Narkose der Tiere Bd. II, Allgemeinnarkose
P. Parey Verlag Berlin u. Hamburg (1961)

- 26.) Sheridan, S., Law, G.R.J., Ruth, R.F.

Stimulation of Graft versus Host Splenomegaly
by Thymectomy of the Donor
Nature 221, 677 (1969)

- 27.) Gruber, F.

Studien zur Bestimmung der Immunglobulin-
spiegel am Beispiel normaler, gnotobiotischer
und konventionalisierter Küken
Inaugural-Dissertation, München (1968)

28.) Kobosil, K.

Zur Rekonstituierung immunologisch
defekter Küken
Diss. in Vorbereitung

29.) Pierce, A.E., Chubb, R.C., Long, P.L.

The significance of the bursa of Fabricius
in relation to the synthesis of 7S and 19S
immunoglobulins and specific antibody
activity in the fowl
Immunology 10, 321 (1966)

30.) Schuhmacher, H.J.

Diss. in Vorbereitung

31.) Perey, D.Y.E., Dupuy, J.M., Good, R.A.

Effector mechanisms of skin homograft
rejection in agammaglobulinemic chickens
Transplantation 9, 8 (1970)

32.) Aspinall, R.J., Meyer, R.K., Graetzer, M.A.

Wolfe, A.R.
Effect of thymectomy and bursectomy on the
survival of skin homografts in chickens.
J. of Immunology 90, 872 (1963)

33.) Jancović, D.

Delayed hypersensitive reactions in bursectom.
chickens
Nature 198, 298 (1963)

- 34.) Perey, D.Y.E., Cooper, M.D., Good, R.A.
Normal second set wattle homograft
rejection in agammaglobulinemic chickens
Transplantation 5, 615 (1967)
- 35.) Van Alten, P.J., Cain, W.A., Good, R.A.,
Cooper, M.D.
Gammaglobulinproduction and antibody
synthesis in chickens bursectomized as embryos
Nature 217, 385 (1968)
- 36.) Ivanyi, J., Salerno, A.
Impairment of humoral antibody response in
neonatally thymectomized and irradiated
chickens
Eur. J. Immunol. 1, 227 (1971)
- 37.) Tyan, M.L., Herzenberg, L.A.
Immunoglobulin production by embryonic
tissues: thymus independent
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 128, 952 (1968)
- 38.) Roitt, J.M., Torrigiani, G., Greaves, M.F.,
Brostoff, J., Playfair, J.H.L.
The cellular basis of immunological responses:
A synthesis of current views
Lancet II, 367 (1969)

39.) Rabellino, E., Grey, M.E.

Immunoglobulins on the surface of lymphocytes
III. Bursal origin of surface of immunoglobulins on chicken lymphocytes
J. Immunol. 106, 1418 (1971)

40.) Kincade, P.W., Cooper, M.D.

Development and distribution of immunoglobulin containing cells in the chicken
(An immunoflorescent analysis using purified antibodies to μ and γ and light chains)
J. Immunolog. 106, 371 (1971)

41.) Nagy, Z.A.

Histological study of the topographic separation of thymus-type and bursa-type lymphocytes and plasma cell series in chicken spleen
Zbl. Vet. Med. A. 17, 422 (1970)

42.) Hoffmann-Fezer, G., Lösch, U.

Vergleichende histologische und immunologische Untersuchungen an immunologisch defekten Hühnern
I. Hormonell bursektomierte Hühner
II. Erblisch dysgammaglobulinämische Hühner
In Vorbereitung (197x)

43.) Howard, J.G.

Increased sensitivity to bacterial endotoxin
of F_1 hybrid mice undergoing graft versus
host reaction

Nature 190, 1122 (1961 b)

44.) Szenberg, A., Warner, N.L.

Dissociation of immunological responsiveness
in fowls with a hormonally arrested develop-
ment of lymphoid tissue

Nature 194, 146 (1962)

45.) Merckenschlager, M., Lösch, U., Kirchner, B.,
Riedel, G., Gruber, F.

Immunglobulingehalte im Serum junger gnoto-
biotischer Mastküken

Zt. Tierphys., Tierernähr. u. Futtermittelkd.

22, 339 (1967)

Nach Beendigung meiner Arbeit möchte ich
Herrn Prof. DDr. DDr.h.c. J. Brüggemann
für die Überlassung des Themas sowie für
die sehr guten Arbeitsbedingungen in seinem
Institut herzlich danken.

Herrn Akademischer Rat Dr. U. Lösch gilt
mein besonderer Dank für die mir jederzeit
gewährte Förderung und Anregung meiner Arbeit.

Für die kollegiale Hilfe bei der Photographie
der Transplantate danke ich Herrn Dr. G. Weber
herzlich.

Lebenslauf

Als erstes der vier Kinder des Medizinalrates Dr. Alfred Schäfer und seiner Ehefrau Johanna, geb. Materlik, wurde ich, Birgitt Regina Schäfer, am 3.11.1946 in Bad Wildungen, Krs. Waldeck geboren.

Im April 1953 trat ich in die Grundschule in Ratzeburg (Schleswig-Holstein) ein.

Nach unserem Umzug nach Bad Segeberg besuchte ich vom Sommer 1953 an die dortige Volksschule bis zu meinem Eintritt in das neusprachlich-naturwissenschaftliche Gymnasium in Bad Segeberg 1957.

Im Februar 1966 legte ich dort die Reifeprüfung ab und begann mit dem Sommersemester 1966 das Studium der Tiermedizin an der Justus Liebig-Universität, Gießen, das ich auch nach dem Tod meines Vaters (am 5. 8. 1966) dort fortsetzte.

Nach dem ersten Teil des Staatsexamens setzte ich 1969 mein Studium an der Ludwig Maximilians-Universität, München fort und beendete mein Staatsexamen im Februar 1971. Im März 1971 wurde ich als Tierärztin bestellt.

An meiner Dissertation arbeitete ich vom März 1971 bis April 1972 im Institut für Tierphysiologie der Universität München.

